U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 là dòng tế bào ung thư xương người được chỉnh sửa gen từ dòng tế bào U2OS, trong đó gen SEH1L (SEH1) nội sinh đã được sửa đổi bằng công nghệ CRISPR/Cas9 để mã hóa một thẻ SNAPf trong khung đọc. SEH1 là một thành phần của phức hợp Y (còn được gọi là phức hợp NUP107-160), một mô-đun cấu trúc chính của phức hợp lỗ hạt nhân (NPC), góp phần vào quá trình lắp ráp và ổn định khung lỗ hạt nhân. Bằng cách chèn trình tự mã hóa SNAPf vào vị trí nội sinh, protein SEH1 được gắn thẻ được biểu hiện dưới sự điều khiển quy định tự nhiên, duy trì mức biểu hiện sinh lý và giảm thiểu sự xáo trộn đối với thành phần lỗ hạt nhân.
Thẻ SNAPf là biến thể được thiết kế, phản ứng nhanh của thẻ SNAP, có khả năng liên kết cộng hóa trị với các chất nền liên kết benzylguanine, cho phép đánh dấu huỳnh quang chọn lọc và ổn định trong tế bào sống hoặc cố định. Trong tế bào U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1, protein liên hợp định vị tại màng nhân theo mô hình chấm đặc trưng cho phân bố của phức hợp lỗ nhân. Vì quá trình đánh dấu diễn ra ở mức độ protein nội sinh, hệ thống này rất phù hợp cho các phân tích kính hiển vi huỳnh quang định lượng, hình ảnh siêu phân giải và theo dõi hạt đơn nhằm phân tích cấu trúc và tỷ lệ thành phần của NPC. Hình thái phẳng và nhân lớn của tế bào U2OS cũng giúp dễ dàng quan sát cấu trúc màng nhân với độ phân giải cao.
SEH1 tham gia vào quá trình sinh tổng hợp NPC và cũng được cho là có liên quan đến các quá trình liên quan đến kinetochore trong quá trình phân bào. Do đó, dòng tế bào này cung cấp một nền tảng mạnh mẽ để nghiên cứu sự lắp ráp và tháo dỡ NPC phụ thuộc vào chu kỳ tế bào, tổ chức không gian của phức hợp Y trong khung lỗ, và các vai trò kép tiềm năng của SEH1 tại màng nhân và kinetochore phân bào. U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 cho phép nghiên cứu cơ chế về kiến trúc và động học của lỗ nhân dưới điều kiện biểu hiện gen tương ứng với điều kiện sinh lý.

Tissue	Xương
Disease	U xương
Metastatic site	Vị trí khối u nguyên phát (xương)

Applications

Sinh học phức hợp Y/phức hợp NUP107-160; vai trò của SEH1 trong quá trình lắp ráp khung NPC; các thành phần NPC liên quan đến kinetochore; tỷ lệ thành phần của NPC; phương pháp đánh dấu SNAP pulse-chase; kính hiển vi siêu phân giải; quá trình hình thành NPC; quá trình phân giải và tái lắp ráp NPC trong giai đoạn mitosis

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1) contains a CRISPR-mediated SNAPf-SEH1 fusion that allows selective labeling of the SEH1 nucleoporin. The modification is stably present. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Tương tự biểu mô

Cell type	Tế bào biểu mô (u xương ác tính)
Doubling time	khoảng 24 đến 36 giờ

IDENTIFIERS

Citation

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 (Số catalog của Cytion: 300664)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

SEH1, SNAPf-tag

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,2 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

Supplements

Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò (FBS), 3,0 g/L glucose, glutamine ổn định, 2,0 mM natri pyruvate, 2,2 g/L $NaHCO_3$, 1% NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Split ratio	1 đến 3
Seeding density	1 đến 3 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.
Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

DONOR

Donor age	15 năm
Ethnicity	Người da trắng

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Third-party agreements apply	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB