

Клетки U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Обща информация

Description

Клетъчната линия U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 представлява специализиран вариант на широко използваната човешка остеосаркомна клетъчна линия U-2 OS. Този конкретен модел е разработен така, че да експресира маркираната с SNAP версия на нуклеопорина Nup107, ключов компонент на комплекса на ядрената пора, който е от съществено значение за преноса на молекули между ядрото и цитоплазмата. Интегрирането на технологията SNAP-tag позволява биоортогонално маркиране и визуализиране на Nup107 в живи или фиксирани клетки, осигурявайки мощен инструмент за изучаване на нуклеоцитоплазмения транспорт и архитектурата на ядрения порен комплекс при физиологични условия.

Фонът на U-2 OS предлага няколко предимства, включително стабилни темпове на растеж и добре характеризирани кариотип, които подпомагат високопроизводителни приложения за скрининг и геномни изследвания. Технологията ZFN (Zinc Finger Nuclease), използвана в тази клетъчна линия, улеснява целенасоченото редактиране на генома, като повишава прецизността, с която изследователите могат да изследват генетичния принос към ядрения транспорт и други клетъчни процеси. Тази клетъчна линия е особено полезна за изследвания, насочени към изясняване на динамиката и регулирането на комплексите от ядрени пори в биологията на рака и клетъчната физиология.

Поради специализирания характер на клетъчната линия U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294, тя е изключително подходяща за усъвършенствани техники за изобразяване, включително микроскопия със суперразрешение, за изследване на функциите на нуклеопорините в безпрецедентни детайли. Тя също така е ценен ресурс за разработване на терапевтични стратегии, насочени към ядрените транспортни пътища, замесени в различни заболявания, включително рак. Компонентът SNAP-tag добавя гъвкавост за по-нататъшни биохимични и протеомични анализи, което го прави незаменим инструмент в областта на клетъчната и молекулярната биология.

Organism Човек

Tissue Bone

Disease Остеосарком

Характеристики

Age 15 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Growth properties Придържачи се

Клетки U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Регулаторни данни

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (каталожен номер 300294 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
Depositor	Лабораторията на Елзбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази човешка клетъчна линия на остеосарком (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 № 294) съдържа генна синтеза SNAP-Nup107, медирана от ZFN, която поддържа селективно маркиране на субединицата на ядрената пора Nup107. Модификацията е стабилно налична. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава на други места.

Биомолекулярни данни

Protein expression	SNAP-Nup107 (протеин 107 от комплекса на ядрената пора, SNAP-етикет)
---------------------------	--

Работа с

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820200a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 3,0 g/L глюкоза, стабилен глутамин, 2,0 mM натриев пируват, 2,2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.