

Buňky U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Obecné informace****Description**

Buněčná linie U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 představuje specializovanou variantu široce používané lidské osteosarkomové buněčné linie U-2 OS. Tento konkrétní model byl vytvořen tak, aby exprimoval SNAP-značenou verzi nukleoporinu Nup107, klíčové součásti komplexu jaderných pórů, který je nezbytný pro transport molekul mezi jádrem a cytoplazmou. Integrace technologie značení SNAP umožňuje biortogonální značení a vizualizaci Nup107 v živých nebo fixovaných buňkách, což poskytuje výkonný nástroj pro studium nukleocytoplazmatického transportu a architektury komplexu jaderných pórů za fyziologických podmínek.

Pozadí U-2 OS nabízí několik výhod, včetně robustní rychlosti růstu a dobře charakterizovaného karyotypu, které podporují vysoce výkonné screeningové aplikace a genomické studie. Technologie ZFN (Zinc Finger Nuclease) použitá v této buněčné linii usnadňuje cílenou editaci genomu, což zvyšuje přesnost, s níž mohou výzkumníci zkoumat genetický přínos k jadernému transportu a dalším buněčným procesům. Tato buněčná linie je zvláště užitečná pro studie zaměřené na objasnění dynamiky a regulace komplexů jaderných pórů v biologii rakoviny a buněčné fyziologii.

Vzhledem ke specializované povaze buněčné linie U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 č. 294 je velmi vhodná pro pokročilé zobrazovací techniky, včetně mikroskopie se superrozlišením, které umožňují zkoumat funkce nukleoporinů v dosud nevídaných detailech. Je také cenným zdrojem pro vývoj terapeutických strategií zaměřených na jaderné transportní dráhy, které se podílejí na různých onemocněních, včetně rakoviny. Složka SNAP-tag zvyšuje univerzálnost pro další biochemické a proteomické analýzy, což z něj činí nepostradatelný nástroj v oblasti buněčné a molekulární biologie.

Organism

Člověk

Tissue

Kost

Disease

Osteosarkom

Charakteristika**Age**

15 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Kavkazský

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (katalogové číslo Cytion 300294)

Buňky U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FM**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Tato linie lidských osteosarkomových buněk (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 č. 294) obsahuje fúzi genů SNAP-Nup107 zprostředkovanou ZFN, která podporuje selektivní značení podjednotky jaderného póru Nup107. Modifikace je stabilně přítomná. Tato klasifikace platí pouze v Německu a může se lišit v jiných zemích.

Biomolekulární data

Protein expression SNAP-Nup107 (protein jaderného pórového komplexu 107, značka SNAP)

Zpracování

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilní glutamin, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO₃, 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3 až 1:6

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
PEZ6: NB-4