

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-celler | 300294**Generel information****Description**

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107-cellelinjen repræsenterer en specialiseret variant af den meget anvendte humane osteosarkom-cellelinje U-2 OS. Denne særlige model er blevet konstrueret til at udtrykke den SNAP-mærkede version af nukleoporinet Nup107, en central komponent i kerneporekomplekset, som er afgørende for transporten af molekyler mellem kernen og cytoplasmaet. Integrationen af SNAP-tag-teknologien giver mulighed for biorthogonal mærkning og visualisering af Nup107 i levende eller fikserede celler, hvilket giver et stærkt værktøj til at studere nukleocytoplasmatiske transport og kerneporekompleksets arkitektur under fysiologiske forhold.

U-2 OS-baggrunden giver flere fordele, herunder robuste vækstrater og en velkarakteriseret karyotype, som understøtter screeningsapplikationer med høj kapacitet og genomiske undersøgelser. ZFN-teknologien (Zinc Finger Nuclease), der anvendes i denne cellelinje, muliggør målrettet genomredigering, hvilket øger den præcision, hvormed forskere kan undersøge de genetiske bidrag til nuklear transport og andre cellulære processer. Denne cellelinje er især nyttig til undersøgelser, der har til formål at belyse dynamikken og reguleringen af nukleare porekomplekser i kræftbiologi og cellulær fysiologi.

På grund af den specialiserede karakter af U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294-cellelinjen er den yderst velegnet til avancerede billeddannelsesteknikker, herunder superopløsningsmikroskopi, til at udforske nukleoporinfunktioner i hidtil usete detaljer. Den er også en værdifuld ressource til udvikling af terapeutiske strategier rettet mod nukleare transportveje, der er involveret i forskellige sygdomme, herunder kræft. SNAP-tag-komponenten tilføjer alsidighed til yderligere biokemiske og proteomiske analyser, hvilket gør det til et uundværligt værktøj inden for celle- og molekylærbiologi.

Organism

Menneske

Tissue

Knogle

Disease

Osteosarkom

Karakteristika**Age**

15 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-celler | 300294

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytion katalognummer 300294)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
-----------------------------	-----------

Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
------------------	-------------------------------

GMO Status	GMO-S1: Denne humane osteosarkomcellelinje (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294) indeholder en ZFN-medieret SNAP-Nup107-genfusion, der understøtter selektiv mærkning af Nup107-kerneporeunderenheden. Modifikationen er stabilt til stede. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.
-------------------	---

Biomolekylære data

Protein expression	SNAP-Nup107 (kerneporekompleks-protein 107, SNAP-tag)
---------------------------	---

Håndtering

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820200a)
-----------------------	---

Supplements	Supplier mediet med 10 % FBS, 3,0 g/L glukose, stabil glutamin, 2,0 mM natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO ₃ , 1 % NEAA
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
---------------------	---

Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
----------------------	-----------------------

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-celler | 300294**Freeze medium**

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-celler | 300294

Shipping Conditions

Kryopræservede cellerlinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.