

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-Zellen | 300294

Allgemeine Informationen

Description

Die Zelllinie U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 ist eine spezielle Variante der weit verbreiteten menschlichen Osteosarkom-Zelllinie U-2 OS. Dieses besondere Modell wurde so entwickelt, dass es die SNAP-markierte Version des Nukleoporins Nup107 exprimiert, einer zentralen Komponente des Kernporenkomplexes, der für den Transport von Molekülen zwischen dem Zellkern und dem Zytoplasma unerlässlich ist. Die Integration der SNAP-Tag-Technologie ermöglicht die biorthogonale Markierung und Visualisierung von Nup107 in lebenden oder fixierten Zellen und bietet damit ein leistungsfähiges Instrument zur Untersuchung des nukleozytoplasmatischen Transports und der Architektur des Kernporenkomplexes unter physiologischen Bedingungen.

Der U-2 OS-Hintergrund bietet mehrere Vorteile, darunter robuste Wachstumsraten und einen gut charakterisierten Karyotyp, die Screening-Anwendungen mit hohem Durchsatz und genomische Studien unterstützen. Die ZFN-Technologie (Zinkfinger-nuklease), die in dieser Zelllinie verwendet wird, erleichtert die gezielte Genom-Editierung und erhöht die Präzision, mit der Forscher die genetischen Beiträge zum Kerntransport und anderen zellulären Prozessen untersuchen können. Diese Zelllinie ist besonders nützlich für Studien, die darauf abzielen, die Dynamik und Regulierung von Kernporenkomplexen in der Krebsbiologie und Zellphysiologie aufzuklären.

Aufgrund ihrer speziellen Beschaffenheit eignet sich die U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294 Zelllinie hervorragend für fortschrittliche bildgebende Verfahren, einschließlich der Super-Resolution-Mikroskopie, um die Nukleoporin-Funktionen in noch nie dagewesenem Detail zu untersuchen. Sie ist auch eine wertvolle Ressource für die Entwicklung therapeutischer Strategien, die auf Kerntransportwege abzielen, die bei verschiedenen Krankheiten, einschließlich Krebs, eine Rolle spielen. Die SNAP-Tag-Komponente bietet zusätzliche Möglichkeiten für weitere biochemische und proteomische Analysen und macht es zu einem unverzichtbaren Werkzeug auf dem Gebiet der Zell- und Molekularbiologie.

Organism Menschen

Tissue Knochen

Disease Osteosarkom

Merkmale

Age 15 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Adhärenz

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-Zellen | 300294**Regulatorische Daten**

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytion-Katalognummer 300294)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
Depositor	Das Ellenberg-Labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Diese menschliche Osteosarkom-Zelllinie (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 Nr. 294) enthält eine ZFN-vermittelte SNAP-Nup107-Genfusion, die eine selektive Markierung der Nup107-Untereinheit der Kernpore ermöglicht. Die Modifikation ist stabil vorhanden. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Protein expression	SNAP-Nup107 (Kernporenkomplex-Protein 107, SNAP-Tag)
---------------------------	--

Handhabung

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820200a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 3,0 g/L Glucose, stabilem Glutamin, 2,0 mM Natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:6

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-Zellen | 300294

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-Zellen | 300294

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,y
PEZ6: NB-4