

## Κύτταρα U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 αντιπροσωπεύει μια εξειδικευμένη παραλλαγή της ευρέως χρησιμοποιούμενης ανθρώπινης κυτταρικής σειράς οστεοσαρκώματος U-2 OS. Αυτό το συγκεκριμένο μοντέλο έχει κατασκευαστεί για να εκφράζει την έκδοση με ετικέτα SNAP της νουκλεοπορίνης Nup107, ένα βασικό συστατικό του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων, το οποίο είναι απαραίτητο για τη μεταφορά μορίων μεταξύ του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος. Η ενσωμάτωση της τεχνολογίας SNAP-tag επιτρέπει τη βιορθολογική σήμανση και οπτικοποίηση της Nup107 σε ζωντανά ή σταθερά κύτταρα, παρέχοντας ένα ισχυρό εργαλείο για τη μελέτη της πυρηνοκυτταροπλασματικής μεταφοράς και της αρχιτεκτονικής του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων υπό φυσιολογικές συνθήκες.

Το υπόβαθρο U-2 OS προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένων των ισχυρών ρυθμών ανάπτυξης και του καλά χαρακτηρισμένου καρυότυπου, τα οποία υποστηρίζουν εφαρμογές διαλογής υψηλής απόδοσης και γονιδιωματικές μελέτες. Η τεχνολογία ZFN (Zinc Finger Nuclease) που χρησιμοποιείται σε αυτή την κυτταρική σειρά διευκολύνει τη στοχευμένη επεξεργασία του γονιδιώματος, ενισχύοντας την ακρίβεια με την οποία οι ερευνητές μπορούν να διερευνήσουν τη γενετική συμβολή στην πυρηνική μεταφορά και σε άλλες κυτταρικές διεργασίες. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για μελέτες που αποσκοπούν στη διαλεύκανση της δυναμικής και της ρύθμισης των συμπλόκων των πυρηνικών πόρων στη βιολογία του καρκίνου και την κυτταρική φυσιολογία.

Λόγω της εξειδικευμένης φύσης της κυτταρικής σειράς U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294, είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για προηγμένες τεχνικές απεικόνισης, συμπεριλαμβανομένης της μικροσκοπίας υπερ-ανάλυσης, για τη διερεύνηση των λειτουργιών της νουκλεοπορίνης με πρωτοφανή λεπτομέρεια. Αποτελεί επίσης πολύτιμο πόρο για την ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών που στοχεύουν σε μονοπάτια πυρηνικής μεταφοράς που εμπλέκονται σε διάφορες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου. Το συστατικό SNAP-tag προσθέτει ευελιξία για περαιτέρω βιοχημικές και πρωτεομικές αναλύσεις, καθιστώντας το απαραίτητο εργαλείο στον τομέα της κυτταρικής και μοριακής βιολογίας.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Οστά

**Disease** Οστεοσάρκωμα

## Χαρακτηριστικά

**Age** 15 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

**Growth properties** Προσκολλημένο

## Κύτταρα U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

## Ρυθμιστικά δεδομένα

<b>Citation</b>	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (αριθμός καταλόγου Cytion 300294)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FM
<b>Depositor</b>	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	ΓΤΟ-S1: Αυτή η ανθρώπινη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 αρ. 294) περιέχει συγχώνευση γονιδίων SNAP-Nup107 με τη μεσολάβηση ZFN, υποστηρίζοντας την επιλεκτική επισήμανση της υπομονάδας του πυρηνικού πόρου Nup107. Η τροποποίηση είναι σταθερά παρούσα. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

## Βιομοριακά δεδομένα

<b>Protein expression</b>	SNAP-Nup107 (πρωτεΐνη του συμπλέγματος πυρηνικού πόρου 107, με ετικέτα SNAP)
---------------------------	--

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρροβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 3,0 g/L γλυκόζη, σταθερή γλουταμίνη, 2,0 mM πυρροβικό νάτριο, 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
<b>Fluid renewal</b>	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

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

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

## Κύτταρα U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

### Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.