

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 rakud | 300294

Üldine teave

Description

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 rakuliin kujutab endast laialdaselt kasutatava inimese osteosarkoomi rakuliini U-2 OS spetsialiseeritud varianti. See konkreetne mudel on loodud selleks, et ekspresseerida tuumaporiini Nup107 SNAP-märgistatud versiooni, mis on tuumapoorikompleksi keskne komponent, mis on oluline molekulide transportimiseks tuuma ja tsütoplasma vahel. SNAP-märgise tehnoloogia integreerimine võimaldab Nup107 biorthogonaalset märgistamist ja visualiseerimist elus või fikseeritud rakkudes, pakkudes võimsat vahendit tuumasütoplasma transpordi ja tuumapoorikompleksi arhitektuuri uurimiseks füsioloogilistes tingimustes.

U-2 OS taustal on mitmeid eeliseid, sealhulgas tugev kasvukiirus ja hästi iseloomustatud karyotüüp, mis toetavad suure läbilaskevõimega sõeluuringu rakendusi ja genoomilisi uuringuid. Selles rakuliinis kasutatav ZFN (Zinc Finger Nuclease) tehnoloogia hõlbustab sihipärast genoomi redigeerimist, suurendades täpsust, millega teadlased saavad uurida geneetilist panust tuuma transportimisse ja muudesse rakulistesse protsessidesse. See rakuliin on eriti kasulik uuringutes, mille eesmärk on selgitada tuumapoorikomplekside dünaamikat ja regulatsiooni vähibioloogias ja rakufüsioloogias.

Tänu rakuliini U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 nr 294 spetsialiseerumisele sobib see väga hästi täiustatud pildistamismeetodite, sealhulgas superresolutsioonimikroskoopia jaoks, et uurida nukleoporiini funktsioone enneolematu detailsusega. See on ka väärtuslik ressurss erinevate haiguste, sealhulgas vähktõve puhul osalevate tuumatranspordiradadele suunatud ravistrateegiate väljatöötamiseks. SNAP-tag-komponent lisab mitmekülgset edasiste biokeemiliste ja proteoomiliste analüüside tegemiseks, muutes selle asendamatuks vahendiks raku- ja molekulaarbioloogia valdkonnas.

Organism

Inimene

Tissue

Bone

Disease

Osteosarkoom

Omadused

Age

15 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytioni katalooginumber 300294)

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 rakud | 300294

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_B7FM

Depositor

Ellenbergi labor (EMBL)

GMO Status

GMO-S1: See inimese osteosarkoomi rakuliin (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 nr 294) sisaldab ZFN-vahendatud SNAP-Nup107 geenifusiooni, mis toetab Nup107 tuumapooride allüksuse selektiivset märgistamist. Modifikatsioon on stabiilselt olemas. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression

SNAP-Nup107 (tuumapoorikompleksi valk 107, SNAP-tag)

Töötlemine

Culture Medium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820200a)

Supplements

Täiendada söötme 10% FBS, 3,0 g/L glükoosi, stabiilse glutamiini, 2,0 mM naatriumpüruvaadi, 2,2 g/L NaHCO₃, 1% NEAaga

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal

2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 rakud | 300294

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.