

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-solut | 300294

Yleisiä tietoja

Description

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107-solulinja edustaa laajalti käytetyn ihmisen osteosarkoomasolulinjan U-2 OS:n erikoistunutta muunnosta. Tämä erityinen malli on kehitetty ilmentämään SNAP-merkittyä versiota nukleoporiin Nup107:stä, joka on keskeinen osa ydinhuokoskompleksia, joka on välttämätön molekyylien kuljettamisessa ytimen ja sytoplasman välillä. SNAP-tag-tekniikan integrointi mahdollistaa Nup107:n biorthogonaalisen merkitsemisen ja visualisoinnin elävissä tai kiinnitetyissä soluissa, mikä tarjoaa tehokkaan työkalun nukleosytosolun kuljetuksen ja ydinhuokoskompleksin arkkitehtuurin tutkimiseen fysiologisissa olosuhteissa.

U-2 OS -tausta tarjoaa useita etuja, kuten vankan kasvunopeuden ja hyvin karakterisoidun karyotyypin, jotka tukevat korkean läpimenon seulontasovelluksia ja genomitutkimuksia. Tässä solulinjassa käytetty ZFN-tekniikka (sinkkisormi-nukleaasi) helpottaa kohdennettua genomin muokkausta, mikä lisää tarkkuutta, jolla tutkijat voivat tutkia geneettistä vaikutusta ydinkuljetukseen ja muihin soluprosesseihin. Tämä solulinja on erityisen hyödyllinen tutkimuksissa, joilla pyritään selvittämään ydinhuokoskompleksien dynamiikkaa ja säätelyä syöpäbiologiassa ja solufysiologiassa.

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294 -solulinjan erikoistuneen luonteen vuoksi se soveltuu erinomaisesti kehittyneisiin kuvantamistekniikoihin, kuten superresoluutiomikroskopiaan, jolla voidaan tutkia nukleoporiin toimintoja ennennäkemättömän yksityiskohtaisesti. Se on myös arvokas resurssi kehitettäessä terapeuttisia strategioita, jotka kohdistuvat ydinkuljetusreitteihin, jotka ovat osallisina eri sairauksissa, kuten syövässä. SNAP-tag-komponentti lisää monipuolisuutta biokemiallisiin ja proteomisiin lisäanalyyseihin, mikä tekee siitä välttämättömän työkalun solu- ja molekyylibiologian alalla.

Organism

Ihminen

Tissue

Luu

Disease

Osteosarkooma

Ominaisuudet

Age

15 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-solut | 300294

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytionin luettelonumero 300294)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
Depositor	Ellenbergin laboratorio (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tämä ihmisen osteosarkoomasolulinja (U2OS-ZFN-ZFN-SNAP-Nup107 nro 294) sisältää ZFN-välitteisen SNAP-Nup107-geenifuusion, joka tukee Nup107-ydinporin alayksikön selektiivistä merkitsemistä. Muunnos on pysyvästi läsnä. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Protein expression	SNAP-Nup107 (ydinhuokoskompleksin proteiini 107, SNAP-tag)
---------------------------	--

Käsittely

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukoosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820200a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 3,0 g/l glukoosilla, stabiililla glutamiinilla, 2,0 mM natriumpyruvaatilla, 2,2 g/l NaHCO ₃ :lla, 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irttoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-solut | 300294

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-solut | 300294

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.