

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 sejtek | 300294

Általános információk

Description

Az U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 sejt vonal a széles körben használt humán osteosarcoma U-2 OS sejt vonal egy speciális változata. Ezt a különleges modellt úgy alakították ki, hogy a nukleoporin Nup107 SNAP-jelöléssel ellátott változatát expresszálja, amely a nukleáris pórus komplex egyik kulcsfontosságú összetevője, és amely nélkülözhetetlen a molekulák sejt mag és citoplazma közötti szállításához. A SNAP-tag technológia integrálása lehetővé teszi a Nup107 biortogonális jelölését és vizualizálását élő vagy rögzített sejtekben, ami hatékony eszközt biztosít a nukleocitoplazmatikus transzport és a nukleáris pórus komplex architektúrájának fiziológiai körülmények közötti tanulmányozásához.

Az U-2 OS háttér számos előnyt kínál, beleértve a robusztus növekedési sebességet és a jól jellemzett kariotípust, amelyek támogatják a nagy áteresztőképességű szűrési alkalmazásokat és a genomikai vizsgálatokat. Az ebben a sejt vonalban használt ZFN (cink-ujj nukleáz) technológia megkönnyíti a célzott genomszerkesztést, növelve a pontosságot, amellyel a kutatók vizsgálhatják a nukleáris transzportot és más sejt folyamatokhoz való genetikai hozzájárulást. Ez a sejt vonal különösen hasznos a nukleáris pórus komplexek dinamikájának és szabályozásának feltárására irányuló vizsgálatokhoz a rákbiológiában és a sejt fiziológiában.

Az U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294 sejt vonal speciális jellegéből adódóan kiválóan alkalmas a fejlett képalkotó technikák, köztük a superfelbontású mikroszkópia alkalmazására, a nukleoporin funkciók eddig nem látott részletességgel történő feltárása érdekében. Értékes erőforrás a különböző betegségekben, többek között a rákban szerepet játszó nukleáris transzportutakat célzó terápiás stratégiák kifejlesztéséhez is. A SNAP-tag komponens sokoldalúságot biztosít további biokémiai és proteomikai elemzésekhez, így nélkülözhetetlen eszközzé válik a sejt- és molekuláris biológia területén.

Organism

Emberi

Tissue

Csont

Disease

Osteosarcoma

Jellemzők

Age

15 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 sejtek | 300294

Citation U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytion katalógusszám: 300294)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FM**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Ez a humán osteosarcoma sejt vonal (U2OS-ZFN-ZFN-SNAP-Nup107 no.294) ZFN-mediált SNAP-Nup107 génfüziót tartalmaz, amely támogatja a Nup107 nukleáris pórus alegység szelektív jelölését. A módosítás stabilan jelen van. Ez az osztályozás csak Németországban érvényes, máshol eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression SNAP-Nup107 (nukleáris pórus komplex fehérje 107, SNAP-tag)

A kezelése

Culture Medium McCoy's 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion cikkszám: 820200a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 3,0 g/L glükózzal, stabil glutaminnal, 2,0 mM nátrium-piruváttal, 2,2 g/L NaHCO₃-mal, 1% NEAA-val

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

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

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 sejtek | 300294

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.