

Cellule U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 rappresenta una variante specializzata della linea cellulare di osteosarcoma umano U-2 OS, ampiamente utilizzata. Questo particolare modello è stato ingegnerizzato per esprimere la versione SNAP-tagged della nucleoporina Nup107, un componente fondamentale del complesso del poro nucleare, essenziale per il trasporto di molecole tra il nucleo e il citoplasma. L'integrazione della tecnologia SNAP-tag consente l'etichettatura e la visualizzazione biorigionale di Nup107 in cellule vive o fissate, fornendo un potente strumento per studiare il trasporto nucleocitoplasmatico e l'architettura del complesso del poro nucleare in condizioni fisiologiche.

Il background U-2 OS offre diversi vantaggi, tra cui tassi di crescita robusti e un cariotipo ben caratterizzato, che supportano applicazioni di screening ad alto rendimento e studi genomici. La tecnologia ZFN (Zinc Finger Nuclease) utilizzata in questa linea cellulare facilita l'editing mirato del genoma, migliorando la precisione con cui i ricercatori possono studiare i contributi genetici al trasporto nucleare e ad altri processi cellulari. Questa linea cellulare è particolarmente utile per gli studi volti a chiarire la dinamica e la regolazione dei complessi dei pori nucleari nella biologia del cancro e nella fisiologia cellulare.

Grazie alla natura specializzata della linea cellulare U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294, è molto adatta a tecniche di imaging avanzate, tra cui la microscopia a super-risoluzione, per esplorare le funzioni delle nucleoporine con un dettaglio senza precedenti. È inoltre una risorsa preziosa per lo sviluppo di strategie terapeutiche mirate alle vie di trasporto nucleare implicate in varie malattie, tra cui il cancro. La componente SNAP-tag aggiunge versatilità per ulteriori analisi biochimiche e proteomiche, rendendolo uno strumento indispensabile nel campo della biologia cellulare e molecolare.

Organism

Umano

Tissue

Osso

Disease

Osteosarcoma

Caratteristiche**Age**

15 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Caucasico

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Cellule U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (numero di catalogo Cytion 300294)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
-----------------------------	-----------

Depositor	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)
------------------	---------------------------------

GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare di osteosarcoma umano (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 n.294) contiene una fusione genica SNAP-Nup107 mediata da ZFN, che supporta la marcatura selettiva della subunità del poro nucleare Nup107. La modifica è presente in modo stabile. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.
-------------------	--

Dati biomolecolari

Protein expression	SNAP-Nup107 (proteina 107 del complesso del poro nucleare, SNAP-tag)
---------------------------	--

Manipolazione

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucosio, w: Glutammina stabile, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820200a)
-----------------------	--

Supplements	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 3,0 g/L di glucosio, Glutammina stabile, 2,0 mM di piruvato di sodio, 2,2 g/L di NaHCO ₃ , 1% di NEAA
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:3 a 1:6
--------------------	---------------------------------------

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Cellule U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,y
PEZ6: NB-4