

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 ląstelės | 300294**Bendra informacija****Description**

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 ląstelių linija yra specializuotas plačiai naudojamos žmogaus osteosarkomos ląstelių linijos U-2 OS variantas. Šis konkretus modelis buvo sukurtas taip, kad ekspresuotų SNAP žymėtą nukleoporino Nup107 versiją - pagrindinį branduolio porų komplekso komponentą, būtiną molekulių pernešimui tarp branduolio ir citoplazmos. Naudojant SNAP žymėjimo technologiją, Nup107 galima žymėti ir vizualizuoti gyvose arba fiksuotose ląstelėse, todėl tai yra galingas įrankis tiriant nukleocitoplazminį pernešimą ir branduolio porų komplekso architektūrą fiziologinėmis sąlygomis.

U-2 OS fonas pasižymi keliais privalumais, įskaitant tvirtą augimo greitį ir gerai apibūdintą kariotipą, kurie padeda atlikti didelio našumo atrankinę patikrą ir genominius tyrimus. Šioje ląstelių linijoje naudojama ZFN (cinko pirštų nukleazės) technologija palengvina tikslinį genomo redagavimą, todėl tyrėjai gali tiksliau ištirti genetinį poveikį branduolio pernašai ir kitiems ląstelių procesams. Ši ląstelių linija ypač naudinga tyrimams, kuriais siekiama išsiaiškinti branduolio porų kompleksų dinamiką ir reguliavimą vėžio biologijoje ir ląstelių fiziologijoje.

Dėl specializuoto U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 Nr. 294 ląstelių linijos pobūdžio ji labai tinka pažangiems vaizdavimo metodams, įskaitant superišskiriamosios gebos mikroskopiją, kad būtų galima tirti nukleoporinų funkcijas iki šiol neregėtomis detalėmis. Ji taip pat yra vertingas šaltinis kuriant terapines strategijas, nukreiptas į branduolio pernašos kelius, susijusius su įvairiomis ligomis, įskaitant vėžį. SNAP žymėjimo komponentas suteikia universalumo tolesnėms biocheminėms ir proteominėms analizėms, todėl jis yra nepakeičiamas įrankis ląstelių ir molekulinės biologijos srityje.

Organism

Žmogus

Tissue

Kaulas

Disease

Osteosarkoma

Charakteristikos**Age**

15 metų

Gender

Moteris

Ethnicity

Kaukaziečių

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys**Citation**

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytion katalogo numeris 300294)

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 ląstelės | 300294

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_B7FM

Depositor

Ellenbergo laboratorija (EMBL)

GMO Status

GMO-S1: šioje žmogaus osteosarkomos ląstelių linijoje (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 Nr. 294) yra ZFN tarpininkaujama SNAP-Nup107 genų sintezė, palaikanti selektyvų Nup107 branduolio poros subvieneto žymėjimą. Modifikacija yra stabili. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression

SNAP-Nup107 (branduolio porų komplekso baltymas 107, SNAP žymuo)

Tvarkymas

Culture Medium

McCoy's 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820200a)

Supplements

Papildykite terpę 10 % FBS, 3,0 g/l gliukozės, stabilu glutaminu, 2,0 mM natrio piruvato, 2,2 g/l NaHCO₃, 1 % NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Fluid renewal

2-3 kartus per savaitę

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 ląstelės | 300294

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.