

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 šūnas | 300294

Vispārīga informācija

Description

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 šūnu līnija ir plaši izmantotās cilvēka osteosarkomas šūnu līnijas U-2 OS specializēts variants. Šis konkrētais modelis ir izstrādāts, lai ekspresētu SNAP marķētu nukleoporīna Nup107 versiju, kas ir kodola poru kompleksa galvenā sastāvdaļa, kura ir būtiska molekulu transportēšanai starp kodolu un citoplazmu. SNAP-marķēšanas tehnoloģijas integrācija ļauj Nup107 biortogonāli marķēt un vizualizēt dzīvās vai fiksētās šūnās, nodrošinot spēcīgu instrumentu nukleocitoplazmas transporta un kodola poru kompleksa arhitektūras izpētei fizioloģiskos apstākļos.

U-2 OS fons piedāvā vairākas priekšrocības, tostarp stabilu augšanas ātrumu un labi raksturotu kariotipu, kas atbalsta augstas veiktspējas skrīninga lietojumus un genomikas pētījumus. Šajā šūnu līnijā izmantotā ZFN (Zinc Finger Nuclease) tehnoloģija atvieglo mērķtiecīgu genoma rediģēšanu, uzlabojot precizitāti, ar kādu pētnieki var izpētīt ģenētisko ietekmi uz kodola transportu un citiem šūnu procesiem. Šī šūnu līnija ir īpaši noderīga pētījumiem, kuru mērķis ir noskaidrot kodolporu kompleksu dinamiku un regulāciju vēža bioloģijā un šūnu fizioloģijā.

Pateicoties U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 Nr. 294 šūnu līnijas specializētajam raksturam, tā ir ļoti piemērota modernām attēlveidošanas metodēm, tostarp superizšķirtspējas mikroskopijai, lai vēl nebijuši detalizēti izpētītu nukleoporīnu funkcijas. Tā ir arī vērtīgs resurss, lai izstrādātu terapeitiskās stratēģijas, kas vērstas uz kodola transporta ceļiem, kuri saistīti ar dažādām slimībām, tostarp vēzi. SNAP marķējuma komponents palielina daudzpusību turpmāku bioķīmisko un proteomisko analīžu veikšanai, padarot to par neaizstājamu rīku šūnu un molekulārās bioloģijas jomā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Bone

Disease

Osteosarkoma

Raksturojums

Age

15 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytion kataloga numurs 300294)

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 šūnas | 300294

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_B7FM

Depositor

Ellenberg laboratorija (EMBL)

GMO Status

GMO-S1: Šī cilvēka osteosarkomas šūnu līnija (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 Nr. 294) satur ZFN mediētu SNAP-Nup107 gēnu saplūšanu, kas atbalsta Nup107 kodola poras apakšvienības selektīvu marķēšanu. Modifikācija ir stabila. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Protein expression

SNAP-Nup107 (kodola poru kompleksa olbaltumviela 107, SNAP birka)

Darbs ar

Culture Medium

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)

Supplements

Papildināt barotni ar 10% FBS, 3,0 g/l glikozes, stabilu glutamīnu, 2,0 mM nātrija piruvāta, 2,2 g/l NaHCO₃, 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal

2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 šūnas | 300294

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 šūnas | 300294

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.