

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-cellen | 300294

Algemene informatie

Description

De U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 cellijn vertegenwoordigt een gespecialiseerde variant van de veelgebruikte humane osteosarcoom cellijn U-2 OS. Dit specifieke model is ontwikkeld om de SNAP-getagde versie van het nucleoporine Nup107 tot expressie te brengen, een centraal onderdeel van het nucleaire poriecomplex, dat essentieel is voor het transport van moleculen tussen de celkern en het cytoplasma. De integratie van de SNAP-tag technologie maakt de biorthogonale etikettering en visualisatie van Nup107 in levende of gefixeerde cellen mogelijk, wat een krachtig hulpmiddel biedt voor het bestuderen van nucleocytoplasmatisch transport en de architectuur van het nucleaire poriecomplex onder fysiologische omstandigheden.

De U-2 OS achtergrond biedt verschillende voordelen, waaronder robuuste groeisnelheden en een goed gekarakteriseerd karyotype, die high-throughput screeningtoepassingen en genomische studies ondersteunen. De ZFN-technologie (Zinc Finger Nuclease) die in deze cellijn wordt gebruikt, maakt gerichte genoombewerking mogelijk, waardoor onderzoekers de genetische bijdragen aan nucleair transport en andere cellulaire processen nauwkeuriger kunnen onderzoeken. Deze cellijn is vooral nuttig voor studies gericht op het ophelderen van de dynamica en regulatie van nucleaire poriecomplexen in kankerbiologie en cellulaire fysiologie.

Door de gespecialiseerde aard van de U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294 cellijn is deze uitermate geschikt voor geavanceerde beeldvormingstechnieken, waaronder superresolutiemicroscopie, om nucleoporinefuncties met ongekend detail te onderzoeken. Het is ook een waardevolle bron voor de ontwikkeling van therapeutische strategieën gericht op nucleaire transportroutes die betrokken zijn bij verschillende ziekten, waaronder kanker. De SNAP-tag component voegt veelzijdigheid toe voor verdere biochemische en proteomische analyses, waardoor het een onmisbaar hulpmiddel is op het gebied van cellulaire en moleculaire biologie.

Organism

Mens

Tissue

Bot

Disease

Osteosarcoom

Kenmerken

Age

15 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-cellen | 300294

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytion catalogusnummer 300294)
-----------------	--

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

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

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

Depositor	Het Ellenberg Lab (EMBL)
------------------	--------------------------

GMO Status	GMO-S1: Deze menselijke osteosarcoomcellijn (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 nr.294) bevat een ZFN-gemedieerde SNAP-Nup107-genfusie, die selectieve labeling van de nucleaire pore-subeenheid Nup107 ondersteunt. De modificatie is stabiel aanwezig. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders verschillen.
-------------------	--

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	SNAP-Nup107 (eiwit 107 van het nucleaire poriëncomplex, SNAP-tag)
---------------------------	---

Omgaan met

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820200a)
-----------------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS, 3,0 g/L Glucose, stabiele Glutamine, 2,0 mM Natriumpyruvaat, 2,2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA
--------------------	---

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

Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
---------------------	--

Split ratio	Een verhouding van 1:3 tot 1:6 wordt aanbevolen
--------------------	---

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
----------------------	-----------------------

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

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-cellen | 300294

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
PEZ6: NB-4