

Komórki U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 stanowi wyspecjalizowany wariant szeroko stosowanej ludzkiej linii komórkowej kostniakomięsaka U-2 OS. Ten konkretny model został opracowany w celu ekspresji znakowanej SNAP wersji nukleoporyny Nup107, kluczowego składnika kompleksu porów jądrowych, który jest niezbędny do transportu cząsteczek między jądrem a cytoplazmą. Integracja technologii SNAP-tag pozwala na biorthogonalne znakowanie i wizualizację Nup107 w żywych lub utrwalonych komórkach, zapewniając potężne narzędzie do badania transportu nukleocytoplazmatycznego i architektury kompleksu porów jądrowych w warunkach fizjologicznych.

Tło U-2 OS oferuje kilka zalet, w tym solidne tempo wzrostu i dobrze scharakteryzowany kariotyp, które wspierają wysokowydajne aplikacje przesiewowe i badania genomiczne. Technologia ZFN (Zinc Finger Nuclease) zastosowana w tej linii komórkowej ułatwia ukierunkowaną edycję genomu, zwiększając precyzję, z jaką naukowcy mogą badać wkład genetyczny w transport jądrowy i inne procesy komórkowe. Ta linia komórkowa jest szczególnie przydatna w badaniach mających na celu wyjaśnienie dynamiki i regulacji kompleksów porów jądrowych w biologii nowotworów i fizjologii komórkowej.

Ze względu na wyspecjalizowany charakter linii komórkowej U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294, jest ona wysoce przystosowana do zaawansowanych technik obrazowania, w tym mikroskopii superrozdzielczej, w celu zbadania funkcji nukleoporyn z niespotykaną dotąd szczegółowością. Jest to również cenny zasób do opracowywania strategii terapeutycznych ukierunkowanych na szlaki transportu jądrowego związane z różnymi chorobami, w tym rakiem. Składnik SNAP-tag dodaje wszechstronności do dalszych analiz biochemicznych i proteomicznych, czyniąc go niezbędnym narzędziem w dziedzinie biologii komórkowej i molekularnej.

Organism

Człowiek

Tissue

Kość

Disease

Mięsak kościopochodny

Charakterystyka**Age**

15 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Komórki U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (numer katalogowy Cytion 300294)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
Depositor	Laboratorium Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ta ludzka linia komórek kostniakomiesaka (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294) zawiera fuzję genów SNAP-Nup107 za pośrednictwem ZFN, wspierającą selektywne znakowanie podjednostki porów jądrowych Nup107. Modyfikacja jest stabilnie obecna. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression	SNAP-Nup107 (białko kompleksu porów jądrowych 107, znacznik SNAP)
---------------------------	---

Obsługa

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogromianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820200a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę o 10% FBS, 3,0 g/l glukozy, stabilną glutaminę, 2,0 mM pirogromianu sodu, 2,2 g/l NaHCO ₃ , 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu

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

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,y
PEZ6: NB-4