

Células U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Informações gerais

Description

A linha celular U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 representa uma variante especializada da linha celular de osteossarcoma humano U-2 OS, amplamente utilizada. Este modelo específico foi concebido para exprimir a versão marcada com SNAP da nucleoporina Nup107, um componente fundamental do complexo do poro nuclear, que é essencial para o transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma. A integração da tecnologia SNAP-tag permite a marcação biortogonal e a visualização da Nup107 em células vivas ou fixas, proporcionando uma ferramenta poderosa para estudar o transporte nucleocitoplasmático e a arquitetura do complexo do poro nuclear em condições fisiológicas.

O fundo U-2 OS oferece várias vantagens, incluindo taxas de crescimento robustas e um cariótipo bem caracterizado, que suportam aplicações de rastreio de elevado rendimento e estudos genómicos. A tecnologia ZFN (Zinc Finger Nuclease) utilizada nesta linha celular facilita a edição orientada do genoma, aumentando a precisão com que os investigadores podem investigar as contribuições genéticas para o transporte nuclear e outros processos celulares. Esta linha celular é particularmente útil para estudos destinados a elucidar a dinâmica e a regulação dos complexos de poros nucleares na biologia do cancro e na fisiologia celular.

Devido à natureza especializada da linha celular U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294, é altamente adequada para técnicas avançadas de imagiologia, incluindo microscopia de super-resolução, para explorar as funções da nucleoporina com um pormenor sem precedentes. É também um recurso valioso para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visem as vias de transporte nuclear implicadas em várias doenças, incluindo o cancro. O componente SNAP-tag acrescenta versatilidade para outras análises bioquímicas e proteómicas, tornando-o uma ferramenta indispensável no domínio da biologia celular e molecular.

Organism

Humano

Tissue

Osso

Disease

Osteossarcoma

Caraterísticas

Age

15 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Caucasiano

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Células U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (número de catálogo Cytion 300294)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
Depositor	O Laboratório Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular de osteossarcoma humano (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294) contém uma fusão do gene SNAP-Nup107 mediada por ZFN, que permite a marcação selectiva da subunidade do poro nuclear Nup107. A modificação está presente de forma estável. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression	SNAP-Nup107 (proteína 107 do complexo do poro nuclear, SNAP-tag)
---------------------------	--

Manuseamento

Culture Medium	McCoy's 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820200a)
Supplements	Suplementar o meio com 10% de FBS, 3,0 g/L de glucose, glutamina estável, 2,0 mM de piruvato de sódio, 2,2 g/L de NaHCO ₃ , 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

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

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.