

Celule U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Informații generale****Description**

Linia celulară U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 reprezintă o variantă specializată a liniei celulare de osteosarcom uman U-2 OS utilizată pe scară largă. Acest model special a fost conceput pentru a exprima versiunea marcată SNAP a nucleoporinei Nup107, o componentă esențială a complexului porului nuclear, care este esențială pentru transportul moleculelor între nucleu și citoplasmă. Integrarea tehnologiei SNAP-tag permite etichetarea și vizualizarea biortogonală a Nup107 în celule vii sau fixate, oferind un instrument puternic pentru studierea transportului nucleocitoplasmatic și a arhitecturii complexului porului nuclear în condiții fiziologice.

Fundalul U-2 OS oferă mai multe avantaje, inclusiv rate de creștere robuste și un cariotip bine caracterizat, care sprijină aplicațiile de screening de mare capacitate și studiile genomice. Tehnologia ZFN (Zinc Finger Nuclease) utilizată în această linie celulară facilitează editarea direcționată a genomului, sporind precizia cu care cercetătorii pot investiga contribuțiile genetice la transportul nuclear și la alte procese celulare. Această linie celulară este deosebit de utilă pentru studiile care vizează elucidarea dinamicii și reglării complexelor de pori nucleari în biologia cancerului și fiziologia celulară.

Datorită naturii specializate a liniei celulare U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 nr.294, aceasta este foarte potrivită pentru tehnicile avansate de imagistică, inclusiv microscopia de superrezoluție, pentru a explora funcțiile nucleoporinelor la detalii fără precedent. Este, de asemenea, o resursă valoroasă pentru dezvoltarea de strategii terapeutice care vizează căile de transport nuclear implicate în diverse boli, inclusiv cancerul. Componenta SNAP-tag adaugă versatilitate pentru analize biochimice și proteomice ulterioare, făcând din aceasta un instrument indispensabil în domeniul biologiei celulare și moleculare.

Organism

Om

Tissue

Os

Disease

Osteosarcom

Caracteristici**Age**

15 ani

Gender

Femei

Ethnicity

Caucasian

Growth properties

Aderent

Date de reglementare**Citation**

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (număr de catalog Cytion 300294)

Celule U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_B7FM

Depositor

Laboratorul Ellenberg (EMBL)

GMO Status

GMO-S1: Această linie celulară de osteosarcom uman (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 nr.294) conține o fuziune de gene SNAP-Nup107 mediată de ZFN, care permite marcarea selectivă a subunității porului nuclear Nup107. Modificarea este prezentă în mod stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Protein expression

SNAP-Nup107 (proteina 107 a complexului porilor nucleari, SNAP-tag)

Manipulare

Culture Medium

McCoys 5a, cu: 3,0 g/L glucoză, cu: glutamină stabilă, cu: 2,0 mM piruvat de sodiu, cu: 2,2 g/L NaHCO₃ (numărul articolului Cytion 820200a)

Supplements

Suplimentați mediul cu 10% FBS, 3,0 g/L glucoză, glutamină stabilă, 2,0 mM piruvat de sodiu, 2,2 g/L NaHCO₃, 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Fluid renewal

de 2 până la 3 ori pe săptămână

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.