

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-celler | 300294**Allmän information****Description**

Cellinjen U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 representerar en specialiserad variant av den allmänt använda humana osteosarkomcellinjen U-2 OS. Denna speciella modell har konstruerats för att uttrycka den SNAP-taggade versionen av nukleoporinet Nup107, en central komponent i kärnporskomplexet, som är avgörande för transporten av molekyler mellan kärnan och cytoplasman. Integrationen av SNAP-tag-tekniken möjliggör biorthogonal märkning och visualisering av Nup107 i levande eller fixerade celler, vilket ger ett kraftfullt verktyg för att studera nukleocytoplasmisk transport och kärnporskomplexets arkitektur under fysiologiska förhållanden.

U-2 OS-bakgrunden erbjuder flera fördelar, inklusive robusta tillväxthastigheter och en väl karakteriserad karyotyp, som stöder screeningapplikationer med hög genomströmning och genomiska studier. ZFN-tekniken (Zinc Finger Nuclease) som används i denna cellinje underlättar riktad genomredigering, vilket ökar den precision med vilken forskare kan undersöka de genetiska bidragen till kärntransport och andra cellulära processer. Denna cellinje är särskilt användbar för studier som syftar till att klargöra dynamiken och regleringen av kärnporskomplex inom cancerbiologi och cellulär fysiologi.

På grund av den specialiserade karaktären hos cellinjen U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294 är den mycket lämplig för avancerade avbildningstekniker, inklusive superupplösningssmikroskopi, för att utforska nukleoporinfunktioner med en detaljrikedom som aldrig tidigare skådats. Den är också en värdefull resurs för att utveckla terapeutiska strategier som riktar sig mot nukleära transportvägar som är inblandade i olika sjukdomar, inklusive cancer. SNAP-tag-komponenten ökar mångsidigheten för ytterligare biokemiska och proteomiska analyser, vilket gör den till ett outhärligt verktyg inom cell- och molekylärbiologi.

Organism

Människan

Tissue

Ben

Disease

Osteosarkom

Egenskaper**Age**

15 år

Gender

Kvinna

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-celler | 300294

Citation U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytion katalognummer 300294)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FM**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Denna mänskliga osteosarkomcellinje (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294) innehåller en ZFN-medierad SNAP-Nup107-genfusion, som stöder selektiv märkning av Nup107-underenheten för kärnpor. Modifieringen är stabilt närvarande. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Protein expression SNAP-Nup107 (kärnporskomplexprotein 107, SNAP-tag)

Hantering

Culture Medium McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glukos, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)

Supplements Komplettera med 10% FBS, 3,0 g/L glukos, stabil glutamin, 2,0 mM natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO₃, 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:3 till 1:6 rekommenderas

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

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

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturbolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107-celler | 300294

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x,y
PEZ6: NB-4