

Bunky U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 predstavuje špecializovaný variant široko používanej ľudskej osteosarkómovej bunkovej línie U-2 OS. Tento konkrétny model bol vytvorený tak, aby exprimoval SNAP-označenú verziu nukleoporínu Nup107, kľúčovú zložku komplexu jadrových pórov, ktorá je nevyhnutná pre transport molekúl medzi jadrom a cytoplazmou. Integrácia technológie SNAP-tag umožňuje biortogónne značenie a vizualizáciu Nup107 v živých alebo fixovaných bunkách, čo poskytuje výkonný nástroj na štúdium nukleocytoplazmatického transportu a architektúry komplexu jadrových pórov za fyziologických podmienok.

Pozadie U-2 OS ponúka niekoľko výhod vrátane robustnej rýchlosti rastu a dobre charakterizovaného karyotypu, ktoré podporujú vysoko výkonné skríningové aplikácie a genomické štúdie. Technológia ZFN (Zinc Finger Nuclease) používaná v tejto bunkovej línii uľahčuje ciele úpravu genómu, čím zvyšuje presnosť, s akou môžu výskumníci skúmať genetický prínos k jadrovému transportu a iným bunkovým procesom. Táto bunková línia je obzvlášť užitočná na štúdie zamerané na objasnenie dynamiky a regulácie komplexov jadrových pórov v biológii rakoviny a bunkovej fyziológii.

Vzhľadom na špecializovanú povahu bunkovej línie U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 č. 294 je veľmi vhodná na pokročilé zobrazovacie techniky vrátane mikroskopie so superrozlíšením na skúmanie funkcií nukleoporínov v nevídaných detailoch. Je tiež cenným zdrojom na vývoj terapeutických stratégií zameraných na jadrové transportné dráhy, ktoré sa podieľajú na rôznych ochoreniach vrátane rakoviny. Komponent SNAP-tag zvyšuje univerzálnosť ďalších biochemických a proteomických analýz, čím sa stáva nepostrádateľným nástrojom v oblasti bunkovej a molekulárnej biológie.

Organism	Ľudské
Tissue	Kosti
Disease	Osteosarkóm

Charakteristika

Age	15 rokov
Gender	Ženy
Ethnicity	Kaukazský
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

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

Bunky U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7FM

Depositor Ellenbergova laboratória (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Táto línia ľudských osteosarkómových buniek (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 č. 294) obsahuje fúziu génov SNAP-Nup107 sprostredkovanú ZFN, ktorá podporuje selektívne značenie podjednotky jadrového póru Nup107. Modifikácia je stabilne prítomná. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Protein expression SNAP-Nup107 (proteín jadrového pórového komplexu 107, značka SNAP)

Spracovanie

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilný glutamín, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO₃, 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.