

Celice U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Splošne informacije****Description**

Celična linija U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 predstavlja specializirano različico pogosto uporabljene celične linije človeškega osteosarkoma U-2 OS. Ta poseben model je bil zasnovan tako, da izraža različico nukleopora Nup107 z oznako SNAP, ki je ključna sestavina kompleksa jedrnih por in je bistvenega pomena za prenos molekul med jedrom in citoplazmo. Vključitev tehnologije SNAP-tag omogoča biortogonalno označevanje in vizualizacijo Nup107 v živih ali fiksiranih celicah, kar zagotavlja močno orodje za preučevanje nukleocitoplazmatskega transporta in arhitekture kompleksa jedrskih por v fizioloških pogojih.

Ozadje U-2 OS ima več prednosti, vključno z visoko stopnjo rasti in dobro opisanim kariotipom, ki podpirata visoko zmogljive presejalne aplikacije in genomske študije. Tehnologija ZFN (nukleaza s cinkovimi prsti), ki se uporablja v tej celični liniji, omogoča ciljno urejanje genoma, kar povečuje natančnost, s katero lahko raziskovalci raziskujejo genetski prispevek k jedrskemu transportu in drugim celičnim procesom. Ta celična linija je še posebej uporabna za študije, katerih cilj je pojasniti dinamiko in regulacijo kompleksov jedrskih por v biologiji raka in celični fiziologiji.

Zaradi specializirane narave celične linije U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 št. 294 je zelo primerna za napredne tehnike slikanja, vključno z mikroskopijo s superresolucijo, s katerimi je mogoče raziskati funkcije nukleoporinov v podrobnostih brez primere. Je tudi dragocen vir za razvoj terapevtskih strategij, usmerjenih na poti jedrskega transporta, ki so vpletene v različne bolezni, vključno z rakom. Komponenta SNAP-tag dodaja vsestranskost za nadaljnje biokemične in proteomske analize, zato je nepogrešljivo orodje na področju celične in molekularne biologije.

Organism

Človek

Tissue

Kosti

Disease

Osteosarkom

Značilnosti**Age**

15 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki**Citation**

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (kataloška številka Cytion 300294)

Celice U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FM**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)

GMO Status GSO-S1: Ta celična linija človeškega osteosarkoma (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 št. 294) vsebuje z ZFN posredovano sintezo genov SNAP-Nup107, ki podpira selektivno označevanje podenote jedrske pore Nup107. Modifikacija je stabilno prisotna. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko druge razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression SNAP-Nup107 (protein kompleksa jedrskih por 107, oznaka SNAP)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium McCoy's 5a, w: 3,0 g/L glukoze, w: stabilen glutamin, w: 2,0 mM natrijevega piruvata, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820200a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 3,0 g/L glukoze, stabilnim glutaminom, 2,0 mM natrijevega piruvata, 2,2 g/L NaHCO₃, 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

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

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

**Freezing
Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.