

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 Hücreleri | 300294

Genel bilgi

Description

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 hücre hattı, yaygın olarak kullanılan insan osteosarkom hücre hattı U-2 OS'nin özel bir varyantını temsil eder. Bu özel model, çekirdek ve sitoplazma arasında moleküllerin taşınması için gerekli olan nükleer gözenek kompleksinin önemli bir bileşeni olan nükleoporin Nup107'nin SNAP etiketli versiyonunu ifade edecek şekilde tasarlanmıştır. SNAP-tag teknolojisinin entegrasyonu, Nup107'nin canlı veya sabit hücrelerde biyortogonal etiketlenmesine ve görselleştirilmesine olanak tanıyarak fizyolojik koşullar altında nükleositolazmik taşıma ve nükleer gözenek kompleksi mimarisini incelemek için güçlü bir araç sağlar.

U-2 OS arka planı, yüksek verimli tarama uygulamalarını ve genomik çalışmaları destekleyen sağlam büyüme oranları ve iyi karakterize edilmiş bir karyotip dahil olmak üzere çeşitli avantajlar sunar. Bu hücre hattında kullanılan ZFN (Zinc Finger Nuclease) teknolojisi, hedeflenen genom düzenlemesini kolaylaştırarak araştırmacıların nükleer taşıma ve diğer hücresel süreçlere genetik katkıları araştırabilecekleri hassasiyeti artırır. Bu hücre hattı, kanser biyolojisi ve hücresel fizyolojide nükleer gözenek komplekslerinin dinamiklerini ve düzenlenmesini aydınlatmayı amaçlayan çalışmalar için özellikle yararlıdır.

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294 hücre hattının özel yapısı nedeniyle, nükleoporin işlevlerini benzeri görülmemiş ayrıntılarla keşfetmek için süper çözünürlüklü mikroskopi de dahil olmak üzere gelişmiş görüntüleme teknikleri için son derece uygundur. Ayrıca, kanser dahil çeşitli hastalıklarda rol oynayan nükleer taşıma yollarını hedef alan terapötik stratejiler geliştirmek için değerli bir kaynaktır. SNAP-tag bileşeni, daha ileri biyokimyasal ve proteomik analizler için çok yönlülük katarak onu hücresel ve moleküler biyoloji alanında vazgeçilmez bir araç haline getirir.

Organism

İnsan

Tissue

Kemik

Disease

Osteosarkom

Özellikler

Age

15 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Kafkas

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (Cytion katalog numarası 300294)

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 Hücreleri | 300294

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_B7FM

Depositor

Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

GMO Status

GMO-S1: Bu insan osteosarkom hücre hattı (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294), Nup107 nükleer gözenek alt biriminin seçici etiketlenmesini destekleyen ZFN aracılı bir SNAP-Nup107 gen füzyonu içerir. Modifikasyon stabil olarak mevcuttur. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression

SNAP-Nup107 (nükleer gözenek kompleksi proteini 107, SNAP-tag)

Elleçleme

Culture Medium

McCoys 5a, w: 3.0 g/L Glukoz, w: stabil Glutamin, w: 2.0 mM Sodyum piruvat, w: 2.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820200a)

Supplements

Ortamı %10 FBS, 3,0 g/L Glukoz, stabil Glutamin, 2,0 mM Sodyum piruvat, 2,2 g/L NaHCO₃, %1 NEAA ile takviye edin

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Fluid renewal

haftada 2 ila 3 kez

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 Hücreleri | 300294

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.