

Елементи U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 являє собою спеціалізований варіант широко використовуваної лінії клітин остеосаркоми людини U-2 OS. Ця модель була сконструйована для експресії SNAP-міченої версії нуклеопорину Nup107, ключового компонента ядерно-порового комплексу, який необхідний для транспорту молекул між ядром і цитоплазмою. Інтеграція технології SNAP-міток дозволяє проводити біортогональне мічення та візуалізацію Nup107 в живих або фіксованих клітинах, забезпечуючи потужний інструмент для вивчення нуклеоцитоплазматичного транспорту та архітектури ядерно-порового комплексу за фізіологічних умов.

Фон U-2 OS має ряд переваг, включаючи високі темпи росту і добре охарактеризований каріотип, які підтримують високопродуктивні скринінгові програми і геномні дослідження. Технологія ZFN (нуклеаза цинкового пальця), що використовується в цій клітинній лінії, полегшує цілеспрямоване редагування геному, підвищуючи точність, з якою дослідники можуть вивчати генетичні внески в ядерний транспорт та інші клітинні процеси. Ця клітинна лінія особливо корисна для досліджень, спрямованих на з'ясування динаміки та регуляції ядерно-порових комплексів у біології раку та клітинній фізіології.

Завдяки спеціалізованому характеру клітинної лінії U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 № 294, вона чудово підходить для передових методів візуалізації, включаючи мікроскопію надвисокої роздільної здатності, для дослідження функцій нуклеопоринів на безпрецедентно високому рівні деталізації. Це також цінний ресурс для розробки терапевтичних стратегій, спрямованих на шляхи ядерного транспорту, що беруть участь у різних захворюваннях, включаючи рак. Компонент SNAP-мітки додає універсальності для подальшого біохімічного та протеомного аналізу, що робить його незамінним інструментом у галузі клітинної та молекулярної біології.

Organism	Людина
Tissue	Кость
Disease	Остеосаркома

Характеристики

Age	15 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Елементи U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (номер за каталогом Cytion 300294)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
Depositor	Лабораторія Елленберга (EMBL)
GMO Status	ГМО-S1: Ця клітинна лінія остеосаркоми людини (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 № 294) містить ZFN-опосередковане злиття генів SNAP-Nup107, що підтримує селективне мічення субодиниці ядерної пори Nup107. Модифікація стабільно присутня. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	SNAP-Nup107 (білок комплексу ядерних пор 107, SNAP-тег)
---------------------------	---

Обробка

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глютамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO ₃ (Cytion article number 820200a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 3,0 г/л глюкози, стабільний глютамін, 2,0 мМ пірувату натрію, 2,2 г/л NaHCO ₃ , 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

Елементи U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Елементи U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.