U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2□一种基因组编辑的人类骨肉瘤细胞系，源自 U2OS细胞。其中内源性RANBP2（亦称NUP358）基因座经CRISPR/Cas9技术修饰，在天然蛋白质编码框内插入 SNAPf标签。 Nup358/RanBP2作为大型核孔蛋白，定位于核孔复合体（NPC）的胞质丝状结构，在核质运输、SUMO化修饰及有丝分裂过程中发挥关键作用。内源性标签确保 SNAPf-Nup358在生理性启动子调控下表达，既维持天然表达水平，又最大限度减少过表达系统相关的伪影。
SNAPf标签□SNAP标签的快速标记变体，可共价结合苄基鸟嘌呤偶联底物，实现活细胞或固定细胞中 Nup358的选择性稳定荧光标记。 在U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2细胞中，融合蛋白以细胞质核孔复合体（NPC）纤维特有的点状分布模式定位于核膜。该构型支持高分辨率荧光成像、超分辨显微镜、脉冲追踪标记及单分子追踪技术，用于研究NPC结构与动态变化。 U2OS细胞扁平形态与大核特征进一步促进了核膜结构的定量成像。
该模型可用于探究Nup358在CRM1/出口蛋白依赖性核输出、Ran GTP酶周期调控及胞质运输平台空间组织中的特异性作用。鉴于 Nup358参与有丝分裂纺锤体组装与着丝粒功能，该细胞系同样适用于研究细胞周期依赖性核孔蛋白重分布及有丝分裂期间核孔复合体的解聚 /重聚过程。 U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2细胞系为解析人细胞核孔复合体胞质面的结构与功能特性提供了具有生理相关性的研究平台。

Tissue	骨质
Disease	骨肉瘤
Metastatic site	原发肿瘤部位（骨）

Applications

核孔复合体胞质丝生物学；Nup358/RanBP2在CRM1介导的核输出中的作用；Ran GTP酶循环；SUMO通路；有丝分裂纺锤体组装；单粒子追踪；超分辨率显微镜； SNAP脉冲-追踪标记法；核孔复合体胞质面的结构

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2) contains a CRISPR-engineered SNAPf-Nup358/RanBP2 fusion enabling precise labeling of nuclear pore cytoplasmic fibrils. The modification is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	上皮样
Cell type	上皮细胞（骨肉瘤）
Doubling time	约24至36小时

IDENTIFIERS

Citation

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2（Cytion 目录号 300663）

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	艾伦伯格实验室（EMBL）

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Nup358/RanBP2, SNAPf-tag

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a，w：3.0 克/升葡萄糖，w：稳定谷氨酰胺，w：2.0 毫摩尔丙酮酸钠，w：2.2 克/升 NaHCO3（Cytion 文章编号 820200a）。

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, 加湿环境。

Supplements

在培养基中添加 10% FBS，3.0 g/L 葡萄糖、稳定的谷氨酰胺、2.0 mM 丙酮酸钠、2.2 g/L NaHCO3，1% NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

去除粘附细胞上的旧培养基，用不含钙和镁的 PBS 冲洗。T25 烧瓶用 3-5 毫升 PBS，T75 烧瓶用 5-10 毫升。然后用 Accutase 完全覆盖细胞，T25 烧瓶用 1-2 毫升，T75 烧瓶用 2.5 毫升。让细胞在室温下孵育 8-10 分钟，使其分离。孵育后，用 10 毫升培养基轻轻混合细胞使其重悬，然后用 300xg 离心 3 分钟。弃去上清液，用新鲜培养基重悬细胞，并将其转移到已装有新鲜培养基的新烧瓶中。

Split ratio	1 至 3
Seeding density	1 至 3 × 10^4 个细胞/cm^2
Fluid renewal	每周 2 至 3 次

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

使用基于 PCR 的检测方法和基于发光的支原体检测方法排除支原体污染。
为确保没有细菌、真菌或酵母菌污染，每天都要对细胞培养物进行目视检查。

Freeze medium	我们使用完全生长培养基（包括 FBS）+10% DMSO 或 CM-1（Cytion 商品目录编号 800100）作为冷冻保存培养基，以获得足够的解冻后存活率，CM-1（Cytion 商品目录编号 800100）含有优化的渗透保护剂和代谢稳定剂，可提高恢复能力并减少冷冻引起的应激。

Storage conditions

如需长期保存，可将样品瓶放入气相液氮中，温度约为 -150 至 -196 ℃。在-80 °C下保存只能作为转入液氮前的短暂过渡。

Shipping conditions

冷冻保存的细胞系用干冰装运，并用经过验证的隔热包装和足够的制冷剂在整个运输过程中保持约 -78 °C 的温度。收到货后，应立即检查容器，并立即将小瓶转移到适当的储藏室。

DONOR

Donor age	15 年
Ethnicity	高加索人

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

计划将低温样品储存在液氮中以便将来解冻时，必须遵守严格的安全措施。在将冷冻样本移入或移出液氮罐时，必须穿戴适当的防护手套和防护服，并使用面罩或安全护目镜。这样做 □为了降低在移出时因冷冻样品爆炸而造成伤害的风险，因为爆炸可能导致锋利的碎片飞溅。

Warranty

在Cytion，我们保证产品的质量和活力。

我们保证，从我们的工厂发货后 60 天内，我们的细胞在开始培养时都 □存活的。

我们保证所有材料均符合分析证书和 /或产品说明书中描述的规格。

有关详细信息，请参阅我们的 <a href="" /Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">保修声明。

Third-party agreements apply	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB