U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 □一種源自 U2OS 細胞的基因組編輯人類骨肉瘤細胞系，其中內源性 RANBP2 （亦稱 NUP358）基因座經由 CRISPR/Cas9 技術進行修飾，使其編碼的蛋白質與原生蛋白保持同框，並整合了 SNAPf 標籤。 Nup358/RanBP2 □一種大型核孔蛋白，定位於核孔複合體（NPC）的細胞質絲狀結構中，在核-細胞質運輸、SUMO化修飾及有絲分裂過程中扮演關鍵角色。 內源性標記確保 SNAPf-Nup358 在生理性啟動子的控制下表達，從而維持原生表達水平，並將過度表達系統相關的人為干擾降至最低。

SNAPf 標籤□ SNAP-tag 的一種快速標記變體，可共價結合苯甲基鳥嘌呤偶聯的底物，從而實現對活細胞或固定細胞中 Nup358 的選擇性且穩定的螢光標記。 在 U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 細胞中，該融合蛋白定位於核膜，呈現出細胞質 NPC 絲狀結構特有的點狀分佈。 此配置支援高解析度螢光成像、超解析度顯微鏡、脈衝追蹤標記以及單分子追蹤等方法，用以研究 NPC 的結構與動態。U2OS 細胞扁平的形態與較大的細胞核，進一步促進了核膜結構的定量成像。

此模型可藉以探究 Nup358 在 CRM1/出口蛋白依賴性核輸出、Ran GTPase 週期調控，以及細胞質運輸平台的空間組織中所扮演的特定角色。 鑑於 Nup358 參與有絲分裂紡錘體組裝及動點功能，該細胞系亦適用於研究有絲分裂期間核孔蛋白的細胞週期依賴性重新分布，以及核孔複合體（ NPC）的解聚與重組。 U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 提供了一個具有生理相關性的平台，用於剖析人類細胞中核孔複合體胞質面的結構與功能面向。

Tissue	骨頭
Disease	骨肉瘤
Metastatic site	原發性腫瘤部位（骨）

Applications

核孔複合體胞質絲狀結構的生物學；Nup358/RanBP2 在 CRM1 介導的核輸出中的作用；Ran GTP酶週期；SUMO 途徑；有絲分裂紡錘體組裝；單粒子追蹤；超解析度顯微鏡；SNAP 脈衝-追蹤標記法；核孔複合體胞質面的結構

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	上皮樣
Cell type	上皮細胞（骨肉瘤）
Doubling time	約 24 至 36 小時

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

IDENTIFIERS

Citation

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2（Cytion 型號 300663）

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	艾倫伯格實驗室（EMBL）

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Nup358/RanBP2，SNAPf-tag

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

麥考伊 5a 培養基，含：3.0 g/L 葡萄糖，含：穩定型谷氨酰胺，含：2.0 mM 丙酮酸鈉，含：2.2 g/L $NaHCO_3$（Cytion 產品編號 820200a）

Incubation atmosphere	37°C，5% CO_2，加濕環境。

Supplements

在培養基中加入 10% FBS，3.0 g/L 葡萄糖、穩定型谷氨醯胺、2.0 mM 丙酮酸鈉、2.2 g/L $NaHCO_3$ 以及 1% NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

從貼壁細胞中移除舊培養基，並用不含鈣和鎂的 PBS洗滌細胞。T25培養瓶使用3-5毫升PBS，T75培養瓶則使用5-10毫升。 接著，用 Accutase 完全覆蓋細胞，T25 培養瓶使用 1–2 毫升，T75 培養瓶則使用 2.5 毫升。將細胞於室溫下孵育 8–10 分鐘，使其脫附。孵育後，將細胞與 10 毫升培養基輕柔混合以使其重新懸浮，然後以 300xg 離心 3 分鐘。棄去上清液，將細胞重新懸浮於新鮮培養基中，並轉移至已預先加入新鮮培養基的新培養瓶中。

Split ratio	1 至 3
Seeding density	1 至 3 × 10^4 個細胞/cm^2
Fluid renewal	每週 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

透過基於 PCR 的檢測及基於發光原理的支原體檢測方法，排除支原體污染的可能性。

為確保無細菌、真菌或酵母菌污染，每日均會對細胞培養物進行目視檢查。

Freeze medium	作為冷凍保存培養基，我們使用完全生長培養基（含 FBS）+ 10% DMSO 以確保解凍後的存活率，或使用 CM-1（Cytion 型號 800100），該培養基含有經優化的滲透保護劑和代謝穩定劑，可提升細胞恢復率並減輕冷凍誘導的壓力。

Storage conditions

若需長期保存，請將試管置於溫度約為 −150 至 −196 °C 的氣相液氮中。僅在轉移至液氮之前，可將試管暫時存放於 −80 °C 環境中，作為短期過渡步驟。

Shipping conditions

冷凍保存的細胞系會以乾冰冷藏，並裝於經驗證的隔熱包裝中，包裝內含有足夠的冷媒，以確保在運輸過程中溫度維持在約 −78 °C。收到貨物後，請立即檢查容器，並盡快將試管轉移至適當的儲存場所。

DONOR

Donor age	15年
Ethnicity	高加索人

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

若計劃將低溫試管存放在液態氮中以供日後解凍，必須嚴格遵守相關安全措施。 必須穿戴適當的防護手套和防護服，且在將冷凍樣本移入或移出液氮罐時，必須佩戴口罩或安全護目鏡。此舉旨在降低因取出時冷凍試管可能發生爆炸而導致受傷的風險，此類爆炸可能造成尖銳碎片飛濺。

Warranty

在 Cytion，我們對產品的品質與存活率提供保障。
我們保證，自本公司設施出貨後
60 天內，我們的細胞在培養開始時仍具存活能力。
我們保證所有材料均符合
分析證明書及／或產品說明書中所載的規格。
詳情請參閱我們的
《保固聲明》。

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