U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

□要

□明

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133□、親株U2OSを背景とする遺伝子改変ヒト骨肉腫細胞株であり、 CRISPR/Cas9によるゲノム編集を用いて内因性 NUP133遺伝子座を改変し、C末端にSNAPfタグをコードするようにしたものである。 NUP133□核孔複合体（NPC）の組立と維持に不可欠な構造サブコンプレックスである Yコンプレックス（NUP107-160コンプレックス）の中核構成要素である。内因性遺伝子座に SNAPfコード配列をフレーム内に導入することで、融合タンパク質 □生体内の調節機構下で発現され、生理的発現レベルと細胞内局在が保持される。
SNAPfタグ□、ベンジルグアニン結合基を有する基質と共有結合反応する改変型 O6-アルキルグアニン-DNAアルキルトランスフェラーゼである SNAPタグの高速標識変異体である。これにより、細胞透過性また □非透過性のSNAP基質を用いて、生細胞また □固定細胞内のNup133を高度に特異的かつ汎用的に蛍光標識することが可能となる。 U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133細胞で□、融合タンパク質□核膜に局在し、核孔複合体（NPC）に特徴的な点状パターンを示す。タグ付けが内因性遺伝子座で発生するため、NPCの化学量論的組成と構造□最小限の擾乱しか受けず、このモデル □定量的超解像顕微鏡法、単一分子追跡、 NPCの組み立てと分解の動的解析に適している。
この細胞株□、核輸送、核細胞質間輸送のダイナミクス、間期および分裂後核再構築時の NPC生合成、ならびに孔骨格内における Y複合体の構造的組織化を研究するための堅牢なプラットフォームを提供する。 U2OS細胞株の背景□平坦な形態と大きな核を有し、高解像度イメージングを容易にする。 U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133細胞□、パルス・チェイス標識実験、相関光電子顕微鏡法、および追加の内因性タグ付きヌクレオポリンや輸送因子との組み合わせによる多色イメージング法に特に適している。

ティッシュ	骨
病気	骨肉腫
転移部位	原発腫瘍の発生部位（骨）

用途

核孔複合体（NPC）の生物学； Nup133/Y複合体の構造；NPCの生合成；核・細胞質間輸送；超解像顕微鏡法（ STORM/PALM/STED）；単一粒子追跡法；パルス・チェイス法によるSNAP標識；相関光顕・電子顕微鏡法； NPCの定量的組成比

分類

生物	人間
セックス	女性
成長特性	アドヘレント
GMOの有無	GMO-S1

GMOのステータスに関する詳細

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133) contains a CRISPR-introduced SNAPf-Nup133 fusion, enabling fluorescent tagging of the Nup133 nucleoporin. The insert is stably present. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

バイオセーフティレベル	1

特徴

形態学	上皮様
細胞の種類	上皮細胞（骨肉腫）
倍増時間	約24~36時間

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

識別子

引用

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133（Cytionカタログ番号300666）

NCBI 納税者番号	9606
セロサウルス	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
預金者	エレンバーグ・ラボ（EMBL）

発現と感受性

タンパク質の発現

Nup133, SNAPfタグ

取り扱いと飼育

培地

McCoys 5a、w: 3.0g/L グルコース、w: 安定グルタミン、w: 2.0mM ピルビン酸ナトリウム、w: 2.2g/L NaHCO3 (Cytion article number 820200a)

培養雰囲気	37°C、5%CO2、加湿雰囲気。

サプリメント

培地に10% FBS、3.0 g/Lグルコース、安定グルタミン、2.0 mMピルビン酸ナトリウム、2.2 g/L NaHCO3、1% NEAAを添加する。

解離試薬	アキュターゼ

継代培養

接着した細胞から古いメデュームを取り除き、カルシウムとマグネシウ ムを除いたPBSで洗浄する。T25フラスコで□3-5ml、T75フラスコで□5-10mlのPBSを使用する。次に、T25フラスコで□1-2ml、T75フラスコで□2.5mlのアキュターゼで細胞を完全に覆う。室温で 8-10分間インキュベートし、細胞を剥離させる。インキュベーション後、細胞を10mlの培地と静かに混合して再懸濁し、 300xgで3分間遠心する。上清を捨て、細胞を新しいメデュームに懸濁し、新しいメデュームの入った新しいフラスコに移す。

分割比率	1~3
播種密度	1~3 × 10^4 細胞/cm^2
流体の更新	週2~3回

解凍と培養

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.

品質管理と凍結保存

無菌性

マイコプラズマ汚染□、PCRベースのアッセイと発光ベースのマイコプラズマ検出法の両方を用いて除外される。

細菌、真菌、酵母のコンタミネーションがないことを確認するため、細胞培養物 □毎日目視検査が行われる。

凍結培地	凍結保存培地として□、融解後の生存率を十分に高めるために完全増殖培地（FBSを含む）＋10%DMSO、また□回復を促進し凍結によるストレスを軽減するために最適化された浸透保護剤と代謝安定剤を含む CM-1（Cytionカタログ番号800100）を使用している。

保管条件

長期保存の場合、バイアルを-150～-196℃の気相液体窒素に入れる。80℃での保存□、液体窒素に移す前の短い暫定措置としてのみ許容される。

配送条件

凍結保存された細胞株□、輸送中約-78℃を維持するのに十分な保冷剤とともに、有効な断熱包装でドライアイスとともに輸送される。受領後、直ちに容器を検査し、遅滞なくバイアルを適切な保管場所に移してください。

寄付者

ドナーの年齢	15年
民族	白人

法務・安全

安全上の注意事項

将来の融解のためにクライオバイアルを液体窒素に保存する場合、厳格な安全対策を遵守することが必須である。適切な保護手袋と保護衣　□不可欠であり、液体窒素タンクへの凍結サンプルの移動中また□液体窒素タンクからの凍結サンプルの移動中に □、フェイスマスクまた□安全ゴーグルの使用が義務付けられている。これ □、凍結試料を取り出す際に、凍結試料が爆発し、鋭利な破片が飛び散って怪我をするリスクを軽減するためである。

保証

サイシオン□、製品の品質と生存率を保証します。
当社で□、培養を開始した時点で、当社施設からの出荷後 60日間、細胞が生存可能であることを保証しています。
すべての材料が、分析証明書および／また□製品シートに記載された仕様に適合していることを保証します。
詳細について□ ′ <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Warranty Statement をご参照ください。

第三者との契約が適用されます	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