U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133□一种基因工程改造的人类骨肉瘤细胞系，源自亲本 U2OS背景。该细胞系通过CRISPR/Cas9介导的基因组编辑技术，对内源性NUP133基因座进行改造，使其C端编码SNAPf标签。 NUP133□Y复合体（NUP107-160复合体）的核心组分，该结构亚复合体对核孔复合体（ NPC）的组装与维持至关重要。通过在内源性位点引入SNAPf编码序列，融合蛋白在天然调控机制下表达，从而保持生理表达水平及亚细胞定位。

SNAPf标签□SNAP标签的快速标记变体，该标签作为工程化 O6-烷基鸟嘌呤-DNA烷基转移酶，可与苄基鸟嘌呤偶联底物发生共价反应。这使得通过细胞渗透性或非渗透性 SNAP底物，能在活细胞或固定细胞中对Nup133进行高度特异且灵活的荧光标记。 在U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133细胞中，融合蛋白以核孔复合体特有的点状模式定位于核膜。由于标签发生于内源性位点，核孔复合体的化学计量与结构仅受微小干扰，使该模型适用于核孔复合体组装与转化的定量超分辨率显微镜观察、单分子追踪及动力学分析。

该细胞系为研究核运输、核质间物质转运动力学、间期及有丝分裂后核重组过程中的核孔复合体生物合成，以及孔架结构内 Y复合体的结构组织提供了强大平台。 U2OS细胞背景具有扁平形态和大型细胞核，便于高分辨率成像。U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133细胞尤其适用于脉冲追踪标记实验、相关光电显微镜技术，以及与其他内源性标记核孔蛋白或转运因子结合的多色成像方法。

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

Applications

核孔复合体（NPC）生物学； Nup133/Y复合体的结构；NPC的生物合成；核-胞质转运；超分辨率显微镜（STORM/PALM/STED）；单粒子追踪；脉冲-追踪SNAP标记法；相关光镜与电镜技术；NPC的定量化学计量学

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-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.

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-Nup133（Cytion 目录号 300666）

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

Nup133 ′ SNAPf-标记

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