U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 □一種源自親本 U2OS 背景的基因工程人骨肉瘤細胞系，其中內源性 NUP133 基因座已透過 CRISPR/Cas9 介導的基因組編輯技術進行修飾，使其編碼 C 端 SNAPf 標籤。 NUP133 □ Y-複合體（NUP107-160 複合體）的核心成分，該結構亞複合體對於核孔複合體（ NPC）的組裝與維持至關重要。 透過將 SNAPf 編碼序列以同框方式導入內源性基因座，該融合蛋白在天然調控機制下表達，從而維持其生理性的表達水準與亞細胞定位。

SNAPf 標籤□ SNAP 標籤的一種快速標記變體，後者□一種經工程改造的 O6-烷基鳥嘌呤-DNA 烷基轉移酶，可與苯甲基鳥嘌呤結合的底物發生共價反應。 這使得研究人員能夠利用細胞滲透性或非滲透性 SNAP 底物，對活細胞或固定細胞中的 Nup133 進行高度特異且多用途的螢光標記。在 U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 細胞中，該融合蛋白以點狀模式定位於核膜上，此模式為核孔複合體的特徵性表現。 由於標記作用發生於內源性基因座，因此對核孔複合體（NPC）的化學計量比與結構的干擾極小，使此模型適合用於定量超解析度顯微鏡觀察、單分子追蹤，以及NPC組裝與周轉的動力學分析。

此細胞系為研究核轉運、核-細胞質轉運動力學、間期及有絲分裂後核重組期間的核孔複合體（ NPC）生物合成，以及孔架內 Y 複合體的結構組織，提供了一個穩健的平台。 U2OS 細胞系具有扁平的形態和大核，有利於高解析度成像。 U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 細胞特別適合用於脈衝追蹤標記實驗、相關光學與電子顯微鏡觀察，以及結合其他內源性標記的核孔蛋白或運輸因子所進行的多色成像方法。

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

Applications

核孔複合體（NPC）生物學； Nup133/Y-複合體結構；NPC生物合成；核質運輸；超解析度顯微鏡（STORM/PALM/STED）；單粒子追蹤；脈衝-追蹤 SNAP 標記法；相關光學與電子顯微鏡技術；NPC 定量化學計量學

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-Nup133□Cytion □□ 300666□

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	□□□□□□□□EMBL□

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Nup133□SNAPf-tag

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

□□□ 5a □□□□□□3.0 g/L □□□□□□□□□□□□□□□□□2.0 mM □□□□□□□2.2 g/L $NaHCO_3$□Cytion □□□□ 820200a□

Incubation atmosphere	37°C□5% CO_2□□□□□□

Supplements

□□□□□□□ 10% FBS□3.0 g/L □□□□□□□□□□□□□2.0 mM □□□□□2.2 g/L $NaHCO_3$ □□ 1% NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□PBS□□□□□T25□□□□□3-5□□PBS□T75□□□□□□5-10□□□ □□□□ Accutase □□□□□□□T25 □□□□□ 1–2 □□□T75 □□□□□□ 2.5 □□□□□□□□□□□□ 8–10 □□□□□□□□ □□□□□□□□ 10 □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□ 300xg □□ 3 □□□□ □□□

Split ratio	1 □ 3
Seeding density	1 □ 3 × 10^4 □□□/cm^2
Fluid renewal	□□ 2 □ 3 □

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

□□□□ PCR □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□
□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□

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