U2OS-CRISPR-TPR-SNAP

300667

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP □一種源自 U2OS 細胞的基因組編輯人骨肉瘤細胞系，其中內源性 TPR（轉位啟動子區域）基因已透過 CRISPR/Cas9 技術進行修改，使其編碼一個同框的 SNAP 標籤。 TPR □一種大型螺旋纏繞型核孔蛋白，定位於核孔複合體（ NPC）核質側的核籃結構中。透過在其內源性基因座上對 TPR 進行標記，該融合蛋白可在原生調控機制下表達，從而保留生理性的表達水平，並維持其正確整合至核籃結構中。

SNAP標籤可使TPR在活細胞或固定細胞中與苯甲基鳥嘌呤偶聯的螢光底物進行共價標記，從而實現高度特異且穩定的可視化。 在 U2OS-CRISPR-TPR-SNAP 細胞中，標記後的 TPR 在核膜上呈現出特有的點狀環狀分布，對應於與 NPC 相關的核籃結構。此系統非常適合用於定量螢光顯微鏡觀察、超解析度成像、脈衝追蹤標記，以及核籃組裝與代謝周轉的動態研究。 U2OS 細胞的扁平形態與大型細胞核，有助於對核膜相關結構進行高解析度成像。

TPR 在 mRNA 輸出、核轉運調控、核周邊的染色質組織以及基因組空間組織中扮演關鍵角色。 TPR 亦參與核轉運相關亞隔室的形成，以及將異染色質排除於核孔相關區域之外。

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP 提供了一個具有生理相關性的模型，可用於解析核籃的結構與動態、探究核質間運輸機制，並在內源性表達條件下研究核膜相關的染色質相互作用。

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

Applications

核籃子生物學；TPR 介導的 mRNA 輸出；核質運輸調控；核周區域的染色質組織；核運輸亞隔室；基因組空間組織；超解析度顯微鏡； SNAP 脈衝-追蹤標記法；異染色質從孔相關區域的排除

CLASSIFICATION

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

GMO status details

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-TPR-SNAP) contains a CRISPR-engineered TPR-SNAP fusion enabling fluorescent and chemical labeling of the TPR nuclear basket protein. The construct 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

IDENTIFIERS

Citation

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP（Cytion 型號 300667）

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	艾倫伯格實驗室（EMBL）

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

TPR ′ SNAP-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