

**Tế bào U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667****Thông tin chung****Description**

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP là dòng tế bào ung thư xương người được chỉnh sửa gen, được phát triển từ tế bào U2OS, trong đó gen TPR (Vùng Khởi Động Di Chuyển) nội sinh đã được sửa đổi bằng công nghệ CRISPR/Cas9 để mã hóa một thẻ SNAP trong khung đọc. TPR là một nucleoporin có cấu trúc xoắn ốc lớn, định vị tại giỏ nhân trên mặt nhân của phức hợp lỗ nhân (NPC). Bằng cách gắn thẻ SNAP tại vị trí nội sinh của TPR, protein liên hợp được biểu hiện dưới sự điều hòa tự nhiên, duy trì mức biểu hiện sinh lý và đảm bảo tích hợp đúng cách vào cấu trúc giỏ nhân.

Thẻ SNAP cho phép gắn nhãn cộng hóa trị TPR với các chất nền huỳnh quang liên kết benzylguanine trong tế bào sống hoặc cố định, cho phép quan sát cụ thể và ổn định. Trong tế bào U2OS-CRISPR-TPR-SNAP, TPR được gắn nhãn hiển thị phân bố dạng vòng chấm đặc trưng trên màng nhân, tương ứng với cấu trúc giỏ nhân liên quan đến NPC. Hệ thống này rất phù hợp cho viễn vọng huỳnh quang định lượng, hình ảnh siêu phân giải, gắn nhãn theo đối xứng và nghiên cứu động học về lắp ráp và thoái biến của giỏ nhân. Hình thái phẳng và nhân lớn của tế bào U2OS thuận lợi cho việc hình ảnh hóa cấu trúc liên quan đến màng nhân với độ phân giải cao.

TPR đóng vai trò quan trọng trong xuất khẩu mRNA, điều hòa vận chuyển nhân, tổ chức chromatin tại vùng biên nhân và tổ chức không gian của bộ gen. TPR cũng liên quan đến việc hình thành các tiểu vùng liên quan đến vận chuyển nhân và loại trừ heterochromatin khỏi các vùng liên quan đến lỗ nhân. U2OS-CRISPR-TPR-SNAP cung cấp một mô hình sinh lý học phù hợp để phân tích cấu trúc và động học của giỏ nhân, nghiên cứu các cơ chế vận chuyển nhân-chất lỏng, và nghiên cứu tương tác giữa chromatin và màng nhân trong điều kiện biểu hiện nội sinh.

**Organism** Con người

**Tissue** Xương

**Disease** U xương

**Đặc điểm**

**Age** 15 năm

**Gender** Nữ

**Ethnicity** Người da trắng

**Morphology** Tương tự biểu mô

**Growth properties** Người tuân thủ

**Dữ liệu quy định**

**Tế bào U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667**

<b>Citation</b>	U2OS-CRISPR-TPR-SNAP (Số catalog Cytion 300667)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>Depositor</b>	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Dòng tế bào ung thư xương người (U2OS-CRISPR-TPR-SNAP) này chứa một protein TPR-SNAP được công nghệ CRISPR chỉnh sửa, cho phép đánh dấu huỳnh quang và hóa học protein TPR trong giò nhân. Cấu trúc này được tích hợp ổn định. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

**Dữ liệu sinh học phân tử**

<b>Protein expression</b>	TPR, SNAP-tag
---------------------------	---------------

**Xử lý**

<b>Culture Medium</b>	McCoy's 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,0 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)
<b>Supplements</b>	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò (FBS), 3,0 g/L glucose, glutamine ổn định, 2,0 mM natri pyruvate, 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
<b>Freeze medium</b>	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

**Tế bào U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới  $-150^{\circ}\text{C}$  để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước  $37^{\circ}\text{C}$  với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở  $300 \times g$  trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , môi trường ẩm.

**Flask Coating**

Không có

**Freezing  
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping  
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

## Tế bào U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667

### Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng  $-150$  đến  $-196$  °C. Việc bảo quản ở  $-80$  °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

## Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

### Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.