**Product sheet**

# Tế bào U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 | 300666

## Thông tin chung

| | |
|---|---|
| **Description** | U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 là dòng tế bào ung thư xương người được biến đổi gen, được phát triển từ dòng tế bào gốc U2OS, trong đó locus NUP133 nội sinh đã được sửa đổi bằng công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 để mã hóa một thẻ SNAPf ở đầu C-terminal. NUP133 là thành phần chính của phức hợp Y (phức hợp NUP107-160), một phức hợp cấu trúc quan trọng cho quá trình lắp ráp và duy trì phức hợp lỗ nhân (NPC). Bằng cách đưa trình tự mã hóa SNAPf vào vị trí nội sinh, protein liên hợp được biểu hiện dưới sự điều khiển quy định tự nhiên, duy trì mức biểu hiện sinh lý và vị trí trong tế bào.<br><br>Thẻ SNAPf là biến thể gắn nhãn nhanh của thẻ SNAP, một enzym O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase được thiết kế để phản ứng cộng hóa trị với các chất nền được liên kết với benzylguanine. Điều này cho phép gắn nhãn huỳnh quang đặc hiệu và linh hoạt cho Nup133 trong tế bào sống hoặc cố định bằng cách sử dụng các chất nền SNAP có khả năng xuyên màng hoặc không xuyên màng. Trong tế bào U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133, protein liên hợp định vị tại vỏ nhân theo mô hình chấm đặc trưng của phức hợp lỗ nhân. Vì quá trình gắn thẻ diễn ra tại vị trí nội sinh, tỷ lệ và cấu trúc của phức hợp lỗ nhân (NPC) ít bị xáo trộn, khiến mô hình này phù hợp cho các phân tích siêu phân giải định lượng, theo dõi phân tử đơn và phân tích động học về quá trình lắp ráp và thoái hóa của NPC.<br><br>Dòng tế bào này cung cấp một nền tảng mạnh mẽ để nghiên cứu vận chuyển nhân, động học vận chuyển nhân-chất tế bào, quá trình sinh tổng hợp NPC trong giai đoạn interphase và tái tổ hợp nhân sau phân bào, cũng như tổ chức cấu trúc của phức hợp Y trong khung lỗ nhân. Nền tảng U2OS có hình thái phẳng và nhân lớn, thuận lợi cho việc chụp ảnh độ phân giải cao. Các tế bào U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 đặc biệt phù hợp cho các thí nghiệm đánh dấu xung-theo dõi, kính hiển vi ánh sáng và điện tử tương quan, cũng như các phương pháp chụp ảnh đa màu kết hợp với các protein lỗ nhân hoặc yếu tố vận chuyển được gắn thẻ nội sinh khác. |
| **Organism** | Con người |
| **Tissue** | Xương |
| **Disease** | U xương |
| **Metastatic site** | Vị trí khối u nguyên phát (xương) |
| **Applications** | Sinh học của phức hợp lỗ nhân (NPC); Cấu trúc phức hợp Nup133/Y; Quá trình hình thành NPC; Vận chuyển giữa nhân và tế bào chất; Kỹ thuật quan sát siêu phân giải (STORM/PALM/STED); Theo dõi hạt đơn; Phương pháp đánh dấu SNAP kiểu pulse-chase; Kỹ thuật quan sát tương quan giữa kính hiển vi quang học và kính hiển vi điện tử; Tỷ lệ thành phần định lượng của NPC |

## Đặc điểm

| | |
|---|---|
| **Age** | 15 năm |
| **Gender** | Nữ |
| **Ethnicity** | Người da trắng |

# Tế bào U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 | 300666

| | |
|---|---|
| **Morphology** | Tương tự biểu mô |
| **Cell type** | Tế bào biểu mô (u xương ác tính) |
| **Growth properties** | Người tuân thủ |

## Dữ liệu quy định

| | |
|---|---|
| **Citation** | U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 (Số catalog Cytion 300666) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | Chưa được chỉ định (dòng tế bào U2OS biến đổi bằng CRISPR; dòng tế bào gốc U2OS CVCL_0042) |
| **Depositor** | Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL) |
| **GMO Status** | GMO-S1: Dòng tế bào ung thư xương người này (U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133) chứa một protein liên hợp SNAPf-Nup133 được đưa vào bằng công nghệ CRISPR, cho phép gắn nhãn huỳnh quang vào protein Nup133. Phần chèn này được duy trì ổn định. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác ở các khu vực khác. |

## Dữ liệu sinh học phân tử

| | |
|---|---|
| **Protein expression** | Nup133, SNAPf-tag |

## Xử lý

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | McCoys 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,0 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a) |
| **Supplements** | 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 $NaHCO_3$, 1% NEAA |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Doubling time** | khoảng 24 đến 36 giờ |

## Tế bào U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 | 300666

| | |
|---|---|
| **Subculturing** | 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. |
| **Split ratio** | 1 đến 3 |
| **Seeding density** | 1 đến 3 × $10^4$ tế bào/$cm^2$ |
| **Fluid renewal** | 2 đến 3 lần mỗi tuần |
| **Freeze medium** | 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 cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra. |

## Tế bào U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 | 300666

### 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°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°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 x 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°C, 5%$_{CO_2}$, 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 °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 °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. |

| | |
|---|---|
| **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 và phân tích phân tử

| | |
|---|---|
| **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.<br><br>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. |