

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple Klon Nr.16 Zellen | 300461

Allgemeine Informationen

Description	Diese klonale stabile Zelllinie wurde durch CRISPR-Cas9D10A-Nickase-unterstütztes Genome Editing erzeugt.
Organism	Menschen
Tissue	Knochen
Disease	Osteosarkom

Merkmale

Age	15 Jahre
Gender	Weiblich
Ethnicity	Kaukasisch
Growth properties	Adhärent

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple Klon Nr. 16 (Cytion Katalognummer 300461)
Biosafety level	1

Expression / Mutation

Protein expression	NUP96-mMaple (endogenes Kernporenkomplex-Protein 96, mMaple-markiert)
---------------------------	---

Handhabung

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820200a)
Medium supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 3,0 g/L Glucose, stabilem Glutamin, 2,0 mM Natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple Klon Nr.16 Zellen | 300461

Passaging solution	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:6
Seeding density	1 x 10 ⁴ Zellen/cm ²
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Freeze medium	CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple Klon Nr.16 Zellen | 300461

Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryovial nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für die sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryovial vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie die Mischung 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Optional kann die Zentrifugation übersprungen und das restliche Einfriermedium nach 24 Stunden entfernt werden.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.