

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 | 300663

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U2OS (U2OS cells expressing CRISPR; U2OS CVCL_0042)
Depositor	EMBL
GMO Status	GMO-S1: U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2)

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

Protein expression	Nup358/RanBP2, SNAPf-tag
--------------------	--------------------------

U2OS

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3.0 g/L, w: 2.0 mM, w: 2.2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820200a)
----------------	---

Supplements	10% FBS, 3.0 g/L, 2.0 mM, 2.2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA
-------------	--

Dissociation Reagent	
----------------------	--

Doubling time	24-36 h
---------------	---------

Subculturing	U2OS cells are grown in McCoy's 5a medium supplemented with 10% FBS, 3.0 g/L, 2.0 mM, 2.2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA. Cells are seeded in T25 flasks at a density of 1-3 x 10 ⁴ cells per flask. Cells are grown to confluence and then split into new flasks at a ratio of 1:3.
--------------	---

Split ratio	1:3
-------------	-----

Seeding density	1-3 x 10 ⁴ cells per flask
-----------------	---------------------------------------

Fluid renewal	2-3 times per week
---------------	--------------------

Freeze medium	U2OS cells are grown in McCoy's 5a medium supplemented with 10% FBS, 3.0 g/L, 2.0 mM, 2.2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA. Cells are seeded in T25 flasks at a density of 1-3 x 10 ⁴ cells per flask. Cells are grown to confluence and then split into new flasks at a ratio of 1:3.
---------------	---

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 | 300663

Thawing and
Culturing Cells

1. 将细胞冻存管放入 37°C 水浴中快速解冻，解冻后将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。
2. 将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 150°C 下离心 5 分钟，弃去上清液，用完全培养基重悬细胞。
3. 将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。
4. 将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。
5. 将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。
6. 将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。
7. 将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。
8. 将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。

Incubation
Atmosphere

37°C, 5% CO₂, 饱和湿度

Flask Coating

无需涂层

Freezing
Procedure

将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。

Shipping
Conditions

将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。

Storage
Conditions

将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。

细胞鉴定与验证

Sterility

细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。PCR 检测细胞基因组 DNA，确认细胞身份。

将细胞悬液转移到含有 10 mL 完全培养基的 25 cm² 培养瓶中，轻轻混匀。将细胞悬液在 37°C 下培养 24 小时，使细胞适应新环境。