

Buňky HEK293-FAP | 305419

Obecné informace

Description

Odmítnutí odpovědnosti: Zobrazené ceny buněčných linií jsou určeny výhradně pro neziskové zákazníky. Pokud zastupujete komerční subjekt, kontaktujte nás pro alternativní ceny.

Buněčná linie HEK293-FAP je stabilní rekombinantní buněčná linie HEK293 vytvořená tak, aby exprimovala Fibroblast Activation Protein (FAP) ve vysoké míře, přibližně 123 000 molekul na buňku. Tato buněčná linie byla vyvinuta pomocí technologie landing pad společnosti inscreenex, která zajišťuje přesnou a reprodukovatelnou integraci genu FAP do specifického, předem ověřeného genomického lokusu. FAP, známá také jako sepráza nebo DPPIV, je serinová proteáza, která se podílí na remodelaci extracelulární matrix, což je důležité zejména v procesech, jako je hojení ran, oprava tkání a fibróza. FAP je také vysoce regulována ve stromatu mnoha epiteliálních nádorů, což z ní činí cenný cíl pro onkologický výzkum a potenciální biomarker pro fibroblasty spojené s rakovinou.

Exprese FAP v této buněčné linii byla potvrzena pomocí průtokové cytometrie s cílově specifickou protilátkou, což zajistilo konzistentní a spolehlivou hustotu receptoru v celé populaci buněk.

Organism Člověk

Tissue Fetální ledvina

Charakteristika

Age Plod

Gender Ženy

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation HEK293-FAP (katalogové číslo Cytion 305419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Buňky HEK293-FAP | 305419

GMO Status GMO-S1: Tento derivát HEK293 obsahuje expresní konstrukt fibroblastového aktivačního proteinu (FAP) pro studie funkce receptorů. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Receptors expressed FAP (Seprase nebo DPPIV)

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Médium doplňte 10% FBS, 1 mM pyruvát sodným, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Přidejte geneticin (G418-Sulfat), abyste dosáhli konečné koncentrace 1 mg/ml.

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Subculturing Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsadte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte odpovídající objem roztoku trypsinu/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C, dokud se buňky neoddělí (5-10 minut). Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně buňky resuspendujte a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % CO₂ a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.

Split ratio Pro první rozdělení po rozmrazení se doporučuje poměr 1:2. Pro běžné kultivace se doporučuje poměr 1:5 až 1:10.

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení rozdělte buňky v poměru 1:2 až 1:3 do baněk T25 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazování a přilnout.

Pro co nejlepší přilnutí a životaschopnost buněk po rozmrazení doporučujeme pro počáteční nasazení po kryozotavení použít baňky nebo destičky potažené kolagenem. Pro následnou běžnou kultivaci buněk není kolagenový povlak nutný.

Buňky HEK293-FAP | 305419

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Buňky HEK293-FAP | 305419

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.