

HEK293-FAP-solut | 305419

Yleisiä tietoja

Description

Vastuuvapauslauseke: Solulinjojen hinnat on tarkoitettu yksinomaan voittoa tavoittelemattomille asiakkaille. Jos edustat kaupallista yksikköä, ota meihin yhteyttä vaihtoehtoisen hinnoittelun saamiseksi.

HEK293-FAP-solulinja on vakaa rekombinantti HEK293-solulinja, joka on suunniteltu ilmentämään fibroblastien aktivointiproteiinia (FAP) korkealla tasolla, noin 123 000 molekyyliä solua kohti. Tämä solulinja kehitettiin inscreenxin laskeutumisalustateknologiaa käyttäen, mikä takaa FAP-geenin tarkan ja toistettavan integroinnin tiettyyn, ennalta validoituun genomiseen lokukseen. FAP, joka tunnetaan myös nimellä Seprase tai DPPIV, on seriiniproteaasi, joka osallistuu solunulkoisen matriisin uudelleenmuotoiluun, mikä on erityisen tärkeää sellaisissa prosesseissa kuin haavan paraneminen, kudoksen korjaus ja fibroosi. FAP on myös voimakkaasti säännelty monien epiteelisyöpien stroomassa, mikä tekee siitä arvokkaan kohteen onkologiselle tutkimukselle ja mahdollisen biomarkkerin syöpään liittyville fibroblasteille.

FAP:n ilmentyminen tässä solulinjassa vahvistettiin virtausytometrialla kohdespesifisellä vasta-aineella, mikä varmisti yhtenäisen ja luotettavan reseptoritiheyden koko solupopulaatiossa.

Organism

Ihminen

Tissue

Sikiön munuaiset

Ominaisuudet

Age

Sikiö

Gender

Nainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation

HEK293-FAP (Cytionin luettelonumero 305419)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HEK293-FAP-solut | 305419

GMO Status

GMO-S1: Tämä HEK293-johdannainen sisältää fibroblastien aktivointiproteiinin (FAP) ekspressiokonstruktion reseptoritoimintatutkimuksia varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Receptors
expressed

FAP (Seprase tai DPPIV)

Käsittely

Culture
Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements

Täydennä elatusainetta 10 % FBS:llä, 1 mM natriumpyruvaatilla, 10 mM HEPES:llä, 1 % NEAA:lla. Lisää genetiinejä (G418-Sulfat), jotta lopullinen pitoisuus on 1 mg/ml.

Dissociation
Reagent

Trypsin-EDTA

Subculturing

Rutiinimaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään sopiva määrä trypsiini/EDTA-liuosta viljelyastian koon mukaan (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa, kunnes solut irtoavat (5-10 minuuttia). Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täyttä elatusainetta trypsiini/EDTA:n inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvatusastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja hiilidioksidipitoisuus 5 %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.

Fluid renewal

2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw
Recovery

Sulattamisen jälkeen solut jaetaan T25-pulloihin suhteessa 1:2-1:3 ja annetaan solujen toipua pakastuksesta ja tarttua vähintään 24 tuntia.

Parhaan kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi solujen sulattamisen jälkeen suosittelemme kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen käyttämistä ensimmäiseen kylvöön kryokuntoutuksen jälkeen. Kollageenipinnoitusta ei tarvita solujen myöhemmässä rutiiniviljelyssä.

Freeze
medium

Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelotunnus 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HEK293-FAP-solut | 305419

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEK293-FAP-solut | 305419

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.