

HEK293-FAP sejtek | 305419

Általános információk

Description

Jogi nyilatkozat: A sejtvonalakra feltüntetett árak kizárólag nonprofit ügyfeleknek szólnak. Ha Ön kereskedelmi szervezetet képvisel, kérjük, lépjen kapcsolatba velünk alternatív árképzésért.

A HEK293-FAP sejtvonala egy stabil rekombináns HEK293 sejtvonala, amelyet úgy terveztek, hogy a fibroblaszt aktiváló fehérjét (FAP) magas szinten, körülbelül 123 000 molekulát expresszáljon sejtenként. Ezt a sejtvonalt az inscreenex landing pad technológiájával fejlesztették ki, amely biztosítja a FAP gén pontos és reprodukálható integrálását egy specifikus, előre validált genomiális lokuszon. A FAP, más néven Seprase vagy DPPIV, egy szerin proteáz, amely részt vesz az extracelluláris mátrix átalakításában, ami különösen fontos az olyan folyamatokban, mint a sebgyógyulás, szövetjavítás és fibrózis. A FAP számos hámrákos daganatos betegség stromájában is erősen felszabályozott, ami értékes célpontot jelent az onkológiai kutatások számára, és a rákhoz kapcsolódó fibroblasztok potenciális biomarkerévé teszi.

A FAP expresszióját ebben a sejtvonalba áramlási citometriával igazoltuk egy célspecifikus antitesttel, biztosítva az egységes és megbízható receptorsűrűséget az egész sejtpopulációban.

Organism

Emberi

Tissue

Magzati vese

Jellemzők

Age

Magzat

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation

HEK293-FAP (Cytion katalógusszám: 305419)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HEK293-FAP sejtek | 305419

GMO Status GMO-S1: Ez a HEK293-származék tartalmaz egy fibroblaszt-aktiváló fehérje (FAP) expressziós konstrukciót a receptorfunkciós vizsgálatokhoz. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed FAP (Seprase vagy DPPIV)

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 1 mM nátrium-piruváttal, 10 mM HEPES-szel, 1% NEAA-val. Adjunk hozzá Geneticint (G418-Sulfat), hogy a végső koncentráció 1 mg/ml legyen.

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Subculturing Rutinszerű adherens sejtkultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombikhoz, 3 ml T75 lombikhoz), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on, amíg a sejtek leválnak (5-10 perc). Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. A leválás után adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtszuspenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5% CO₂-ra beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery A felolvasztás után osszuk a sejteket 1:2-1:3 arányban T25 lombikokba, és hagyjuk, hogy a sejtek legalább 24 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból és megtapadjanak.

A sejtek felolvasztása után a legjobb kötődés és életképesség érdekében javasoljuk, hogy a mélyhűtés utáni első beültetéshez kollagénnel bevont lombikokat vagy lemezeket használjunk. A sejtek későbbi rutinszerű tenyésztéséhez nincs szükség kollagénbevonatra.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HEK293-FAP sejtek | 305419

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HEK293-FAP sejtek | 305419

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.