

Cellule HEK293-FAP | 305419

Informazioni generali

Description

Disclaimer: i prezzi indicati per le linee cellulari sono destinati esclusivamente a clienti no-profit. Se rappresentate un'entità commerciale, contattateci per ottenere prezzi alternativi.

La linea cellulare HEK293-FAP è una linea cellulare HEK293 ricombinante stabile, ingegnerizzata per esprimere la proteina di attivazione dei fibroblasti (FAP) a un livello elevato, circa 123.000 molecole per cellula. Questa linea cellulare è stata sviluppata utilizzando la tecnologia landing pad di inscreenex, che garantisce un'integrazione precisa e riproducibile del gene FAP in un locus genomico specifico e pre-validato. La FAP, nota anche come Seprase o DPPIV, è una serina proteasi coinvolta nel rimodellamento della matrice extracellulare, particolarmente importante in processi quali la guarigione delle ferite, la riparazione dei tessuti e la fibrosi. La FAP è anche altamente upregolata nello stroma di molti tumori epiteliali, il che la rende un obiettivo prezioso per la ricerca oncologica e un potenziale biomarcatore per i fibroblasti associati al cancro.

L'espressione di FAP in questa linea cellulare è stata confermata mediante citometria a flusso con un anticorpo specifico per il bersaglio, garantendo una densità recettoriale coerente e affidabile in tutta la popolazione cellulare.

Organism Umano

Tissue Rene fetale

Caratteristiche

Age Feto

Gender Donna

Morphology Simile all'epitelio

Growth properties Monostrato, aderente

Dati normativi

Citation HEK293-FAP (catalogo Cytion numero 305419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Cellule HEK293-FAP | 305419

GMO Status	GMO-S1: Questo derivato HEK293 contiene un costrutto per l'espressione della proteina di attivazione dei fibroblasti (FAP) per studi sulla funzione dei recettori. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.
-------------------	--

Dati biomolecolari

Receptors expressed	FAP (Seprase o DPPIV)
----------------------------	-----------------------

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 1 mM sodio piruvato, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Aggiungere Geneticina (G418-Sulfat) per ottenere una concentrazione finale di 1 mg/mL.
--------------------	--

Dissociation Reagent	Tripsina-EDTA
-----------------------------	---------------

Subculturing	Per la coltura di routine di cellule aderenti: Aspirare il vecchio terreno di coltura dalle cellule aderenti e lavarle con PBS per rimuovere il terreno residuo. Dopo aver aspirato il PBS, aggiungere il volume appropriato di soluzione di tripsina/EDTA in base alle dimensioni del recipiente di coltura (ad esempio, 1 ml per una fiasca T25, 3 ml per una fiasca T75) e incubare a temperatura ambiente o a 37°C fino al distacco delle cellule (5-10 minuti). Monitorare il distacco al microscopio e, se necessario, picchiare delicatamente il contenitore per liberare le cellule. Una volta staccate, aggiungere terreno completo per inattivare la tripsina/EDTA, risospendere delicatamente le cellule e trasferire un'aliquota della sospensione cellulare in un nuovo recipiente di coltura contenente terreno fresco. Porre il recipiente in un incubatore a 37°C con il 5% di CO ₂ e cambiare il terreno ogni 2-3 giorni.
---------------------	---

Split ratio	Si raccomanda un rapporto di 1:2 per lo split iniziale dopo lo scongelamento. Per le colture di routine si consiglia un rapporto compreso tra 1:5 e 1:10.
--------------------	---

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, dividere le cellule in un rapporto da 1:2 a 1:3 in fiasche T25 e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore. Per ottenere una migliore adesione e vitalità dopo lo scongelamento delle cellule, si consiglia di utilizzare fiasche o piastre rivestite di collagene per la semina iniziale dopo il crio-recupero. Il rivestimento in collagene non è necessario per la successiva coltura di routine delle cellule.
---------------------------	---

Cellule HEK293-FAP | 305419

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Cellule HEK293-FAP | 305419

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.