

HEK293-FAP ląstelės | 305419

Bendra informacija

Description

Atsakomybės apribojimas: rodomos ląstelių linijų kainos skirtos tik ne pelno siekiantiems klientams. Jei atstovaujate komerciniam subjektui, susisiekite su mumis dėl alternatyvių kainų.

HEK293-FAP ląstelių linija yra stabili rekombinantinė HEK293 ląstelių linija, sukurta taip, kad ekspresuotų fibroblastų aktyvacijos baltymą (FAP) dideliu kiekiu, maždaug 123 000 molekulių ląstelėje. Ši ląstelių linija buvo sukurta naudojant "inscreenex" "landing pad" technologiją, užtikrinančią tikslią ir pakartojamą FAP geno integraciją konkrečiame, iš anksto patvirtintame genomo lokuse. FAP, dar žinoma kaip seprazė arba DPPIV, yra serino proteazė, dalyvaujanti ekstraląstelinio matrikso pertvarkyme, kuris ypač svarbus tokiuose procesuose, kaip žaizdų gijimas, audinių atstatymas ir fibrozė. FAP taip pat labai padidėja daugelio epitelinių vėžių stromoje, todėl ji yra vertingas taikynys onkologiniams tyrimams ir potencialus su vėžiu susijusių fibroblastų biomarkeris.

FAP raiška šioje ląstelių linijoje buvo patvirtinta naudojant srauto citometriją su taikiniui specifiniu antikūnu, taip užtikrinant nuoseklų ir patikimą receptorių tankį visoje ląstelių populiacijoje.

Organism

Žmogus

Tissue

Vaisiaus inkstai

Charakteristikos

Age

Vaisius

Gender

Moteris

Morphology

Į epitelį panašus

Growth properties

Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation

HEK293-FAP (Cytion katalogo numeris 305419)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

GMO Status

GMO-S1: šiame HEK293 darinyje yra fibroblastų aktyvacijos baltymo (FAP) raiškos konstruktas, skirtas receptorių funkcijos tyrimams. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

HEK293-FAP ląstelės | 305419

Biomolekuliniai duomenys

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

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 1 mM natrio piruvatu, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Pridėkite genetinco (G418-Sulfat), kad galutinė koncentracija būtų 1 mg/ml.
--------------------	--

Dissociation Reagent	Trypsino ir EDTA
-----------------------------	------------------

Subculturing	Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį tripsino ir EDTA tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje, kol ląstelės atsiskirs (5-10 min.). Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuotas tripsinas/EDTA, atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkeltite alikvotą ląstelių suspensijos į naują auginimo indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į inkubatorių, kuriame nustatyta 37 °C temperatūra ir 5 % CO ₂ , o terpę keiskite kas 2-3 dienas.
---------------------	--

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
----------------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	Po atšildymo padalykite ląsteles santykiu 1:2-1:3 į T25 kolbas ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bei sukibti bent 24 valandas. Kad ląstelės geriausiai prisitvirtintų ir būtų gyvybingos po atšildymo, rekomenduojame naudoti kolagenu dengtas kolbas arba plokštes pradiniam pasėjimui po atšildymo. Vėliau įprastai auginant ląsteles kolagenu dengti nereikia.
---------------------------	--

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

HEK293-FAP ląstelės | 305419**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HEK293-FAP ląstelės | 305419

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.