

HEK293-FAP-cellen | 305419

Algemene informatie

Description

Disclaimer: De getoonde prijzen voor cellijnen zijn uitsluitend voor klanten zonder winstoogmerk. Als u een commerciële organisatie vertegenwoordigt, neem dan contact met ons op voor alternatieve prijzen.

De HEK293-FAP cellijn is een stabiele recombinante HEK293 cellijn die is ontwikkeld om het Fibroblast Activation Protein (FAP) op een hoog niveau tot expressie te brengen, ongeveer 123.000 moleculen per cel. Deze cellijn werd ontwikkeld met behulp van inscreenex' landingpad-technologie, waardoor een nauwkeurige en reproduceerbare integratie van het FAP-gen op een specifieke, vooraf gevalideerde genomische locus wordt gegarandeerd. FAP, ook bekend als Seprase of DPPIV, is een serine protease die betrokken is bij de remodelering van de extracellulaire matrix, wat vooral belangrijk is bij processen zoals wondgenezing, weefselherstel en fibrose. FAP is ook sterk verhoogd in de stroma van veel epitheliale kankers, waardoor het een waardevol doelwit is voor oncologisch onderzoek en een potentiële biomarker voor kankergerelateerde fibroblasten.

De expressie van FAP in deze cellijn werd bevestigd met flowcytometrie met een doelspecifiek antilichaam, waardoor een consistente en betrouwbare receptordichtheid in de gehele celpopulatie werd gegarandeerd.

Organism Mens

Tissue Foetale nier

Kenmerken

Age Foetus

Gender Vrouw

Morphology Epitheelachtig

Growth properties Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation HEK293-FAP (Cytion catalogusnummer 305419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HEK293-FAP-cellen | 305419

GMO Status GMO-S1: Dit HEK293-derivaat bevat een FAP-expressieconstruct (fibroblast activation protein) voor onderzoek naar de receptorfunctie. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed FAP (Seprase of DPPIV)

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS, 1 mM natriumpyruvaat, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Voeg Geneticine (G418-Sulfat) toe tot een eindconcentratie van 1 mg/mL.

Dissociation Reagent Trypsine-EDTA

Subculturing Voor routinematige adherente celkweek: Zuig het oude kweekmedium van de adherente cellen af en was ze met PBS om eventueel achtergebleven medium te verwijderen. Voeg na het opzuigen van de PBS het juiste volume trypsine/EDTA-oplossing toe op basis van de grootte van het kweekvat (bijv. 1 ml voor een T25-kolf, 3 ml voor een T75-kolf) en incubeer bij kamertemperatuur of 37 °C tot de cellen loskomen (5-10 minuten). Controleer de onthechting onder een microscoop en tik zo nodig voorzichtig op het vat om de cellen los te maken. Voeg na het losmaken volledig medium toe om de trypsine/EDTA te inactiveren, resuspendeer de cellen voorzichtig en breng een aliquot van de celsuspensie over in een nieuw kweekvat met vers medium. Plaats het kweekvat in een incubator die is ingesteld op 37°C met 5%_{CO2} en ververs het medium elke 2-3 dagen.

Split ratio Een verhouding van 1:2 wordt aanbevolen voor de eerste splitsing na het ontdooien. Een verhouding van 1:5 tot 1:10 wordt aanbevolen voor routinekweek.

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery

Splits de cellen na het ontdooien in een verhouding van 1:2 tot 1:3 in T25-flesjes en laat de cellen gedurende ten minste 24 uur herstellen van het vriesproces en zich hechten.

Voor de beste hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien van de cellen raden we aan om kolven of platen met een collageencoating te gebruiken voor het eerste zaaien na het cryo-herstel. Collageencoating is niet nodig voor de daaropvolgende routinekweek van de cellen.

HEK293-FAP-cellen | 305419

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

HEK293-FAP-cellen | 305419

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.