Product sheet

Buňky HEK293-CXCR4 | 305420

Obecné informace

Description	**Upozornění: Ceny uvedené u buněčných linií platí výhradně pro akademické a neziskové zákazníky. Pro komerční subjekty činí cena přibližně 6 250 €.** **Pokud zastupujete komerční subjekt nebo si nejste jisti, do které kategorie spadáte, prosím nás kontaktujte.** Buněčná linie HEK293-CXCR4 je stabilní rekombinantní buněčná linie HEK293, která byla geneticky upravena tak, aby exprimovala receptor CXCR4 na středně vysoké úrovni, přibližně 7 800 molekul na buňku. Tato buněčná linie byla vyvinuta pomocí technologie „landing pad“ společnosti inscreenex, která zajišťuje přesnou a reprodukovatelnou integraci genu CXCR4 na specifickém, předem ověřeném genomovém lokusu. CXCR4, známý také jako CD184, je chemokinový receptor patřící do rodiny receptorů spřažených s G-proteinem (GPCR). Hraje klíčovou roli v migraci imunitních buněk, hematopoéze a slouží jako koreceptor pro vstup HIV do buněk. CXCR4 se také podílí na růstu nádorů, metastázování a angiogenezi, zejména u hematologických malignit, což z něj činí významný cíl v oblasti výzkumu rakoviny a vývoje léčby. Exprese CXCR4 v této buněčné linii byla potvrzena pomocí průtokové cytometrie s protilátkou specifickou pro cíl, což zajistilo konzistentní a spolehlivou hustotu receptorů v celé buněčné populaci.
Organism	Člověk
Tissue	Fetální ledvina
Disease	Transformované/imortalizované; netumorogenní (na pozadí HEK293)
Applications	Vývoj protilátek namířených proti CXCR4; farmakologie GPCR; studie signalizace SDF-1/CXCL12; výzkum koreceptorů HIV; screening protinádorových a protimetastatických léčiv

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epitelové buňky
Growth properties	Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Product sheet

Buňky HEK293-CXCR4 | 305420

Citation	HEK293-CXCR4 (katalogové číslo Cytion 305420)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G21
GMO Status	GMO-S1: Tato upravená linie HEK293 obsahuje expresní kazetu CXCR4 pro analýzu signalizace GPCR a vazby ligandů. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Receptors expressed	CXCR4 (CD184)

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Médium doplňte 10% FBS, 1 mM pyruvátem sodným, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Přidejte geneticin (G418-Sulfat), abyste dosáhli konečné koncentrace 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	cca 24–36 hodin
Subculturing	Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsaďte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte odpovídající objem roztoku trypsinu/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C, dokud se buňky neoddělí (5-10 minut). Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně resuspendujte buňky a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % $_{CO2}$ a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.
Split ratio	1 až 5
Seeding density	2 až 4 x $10^{4\ buněk}/cm^2$

Buňky HEK293-CXCR4 | 305420

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení rozdělte buňky v poměru 1:2 až 1:3 do baněk T25 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazování a přilnout. Pro co nejlepší přilnutí a životaschopnost buněk po rozmrazení doporučujeme pro počáteční nasazení po kryozotavení použít baňky nebo destičky potažené kolagenem. Pro následnou běžnou kultivaci buněk není kolagenový povlak nutný.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky HEK293-CXCR4 | 305420

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.