Product sheet

Κύτταρα HEK293-CXCR4 | 305420

Γενικές πληροφορίες

Description	**Σημείωση: Οι τιμές που εμφανίζονται για τις κυτταρικές σειρές ισχύουν αποκλειστικά για πελάτες του ακαδημαϊκού τομέα ή μη κερδοσκοπικού χαρακτήρα. Για εμπορικές οντότητες, η τιμή ανέρχεται σε περίπου 6.250 €.** **Εάν εκπροσωπείτε εμπορική οντότητα ή δεν είστε σίγουροι για την κατηγορία στην οποία ανήκετε, παρακαλούμε επικοινωνήστε μαζί μας.** Η κυτταρική σειρά HEK293-CXCR4 είναι μια σταθερή ανασυνδυασμένη κυτταρική σειρά HEK293 που έχει σχεδιαστεί για να εκφράζει τον υποδοχέα CXCR4 σε μέτριο-υψηλό επίπεδο, περίπου 7.800 μόρια ανά κύτταρο. Αυτή η κυτταρική σειρά αναπτύχθηκε χρησιμοποιώντας την τεχνολογία landing pad της inscreenex, η οποία εξασφαλίζει την ακριβή και αναπαραγώγιμη ενσωμάτωση του γονιδίου CXCR4 σε έναν συγκεκριμένο, προ-επικυρωμένο γονιδιωματικό τόπο. Το CXCR4, επίσης γνωστό ως CD184, είναι ένας υποδοχέας χημειοκίνης που ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων συζευγμένων με πρωτεΐνη G (GPCR). Διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη μετακίνηση των ανοσοκυττάρων, στην αιμοποίηση και λειτουργεί ως συνυποδοχέας για την είσοδο του HIV στα κύτταρα. Το CXCR4 εμπλέκεται επίσης στην ανάπτυξη όγκων, στη μετάσταση και στην αγγειογένεση, ιδιαίτερα σε αιματολογικές κακοήθειες, καθιστώντας το σημαντικό στόχο στην έρευνα για τον καρκίνο και στην ανάπτυξη θεραπειών. Η έκφραση του CXCR4 σε αυτή την κυτταρική σειρά επιβεβαιώθηκε με τη χρήση κυτταρομετρίας ροής με ένα αντίσωμα ειδικό για τον στόχο, εξασφαλίζοντας συνεπή και αξιόπιστη πυκνότητα υποδοχέων σε ολόκληρο τον κυτταρικό πληθυσμό.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εμβρυϊκός νεφρός
Disease	Μετασχηματισμένο/αθανατοποιημένο· μη ογκογόνο (υπόβαθρο HEK293)
Applications	Ανάπτυξη αντισωμάτων που στοχεύουν στο CXCR4· Φαρμακολογία των GPCR· Μελέτες σηματοδότησης SDF-1/CXCL12· Έρευνα σχετικά με τους συνυποδοχείς του HIV· Διαλογή φαρμάκων κατά των όγκων και των μεταστάσεων

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα

Κύτταρα HEK293-CXCR4 | 305420

Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HEK293-CXCR4 (αριθμός καταλόγου Cytion 305420)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G21
GMO Status	ΓΤΟ-S1: Αυτή η τροποποιημένη σειρά HEK293 περιέχει μια κασέτα έκφρασης CXCR4 για αναλύσεις σηματοδότησης και σύνδεσης συνδέσμων GPCR. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	CXCR4 (CD184)

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1 mM πυρουβικό νάτριο, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Προσθέστε Geneticin (G418-Sulfat) για να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Τρυψίνη-EDTA
Doubling time	περίπου 24-36 ώρες

Κύτταρα HEK293-CXCR4 | 305420

Subculturing	Για συνήθη καλλιέργεια προσκολλημένων κυττάρων: Αναρροφήστε το παλιό μέσο καλλιέργειας από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS για να απομακρύνετε τυχόν εναπομείναν μέσο. Αφού αναρροφήσετε το PBS, προσθέστε τον κατάλληλο όγκο διαλύματος Trypsin/EDTA με βάση το μέγεθος του δοχείου καλλιέργειας (π.χ. 1 ml για φιάλη T25, 3 ml για φιάλη T75) και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου ή 37°C έως ότου αποκολληθούν τα κύτταρα (5-10 λεπτά). Παρακολουθήστε την αποκόλληση στο μικροσκόπιο και χτυπήστε απαλά το δοχείο εάν είναι απαραίτητο για να απελευθερώσετε τα κύτταρα. Αφού αποκολληθούν, προσθέστε πλήρες μέσο για να αδρανοποιήσετε την Τρυψίνη/EDTA, ανασυσσωματώστε απαλά τα κύτταρα και μεταφέρετε μια εκατοστιαία ποσότητα του εναιωρήματος των κυττάρων σε ένα νέο δοχείο καλλιέργειας που περιέχει φρέσκο μέσο. Τοποθετήστε το δοχείο σε επωαστήρα ρυθμισμένο στους 37°C με 5% $_{CO2}$ και αλλάζετε το μέσο κάθε 2-3 ημέρες.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	2 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, χωρίστε τα κύτταρα σε αναλογία 1:2 έως 1:3 σε φιάλες T25 και αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες. Για καλύτερη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη των κυττάρων, συνιστούμε τη χρήση φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου για την αρχική σπορά μετά την κρυοανάκτηση. Η επίστρωση κολλαγόνου δεν απαιτείται για την επακόλουθη συνήθη καλλιέργεια των κυττάρων.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HEK293-CXCR4 | 305420

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HEK293-CXCR4 | 305420

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.