Product sheet

HEK293-HER2 sejtek | 305422

Általános információk

Description	**Jogi nyilatkozat: A sejtvonalak mellett feltüntetett árak kizárólag tudományos/nonprofit ügyfelekre vonatkoznak. Kereskedelmi szervezetek esetében az ár körülbelül 6 250 euró.** **Ha kereskedelmi szervezetet képvisel, vagy nem biztos abban, hogy melyik kategória vonatkozik Önre, kérjük, vegye fel velünk a kapcsolatot.** A HEK293-HER2 sejtvonal egy stabil, rekombináns HEK293 sejtvonal, amelyet úgy alakítottak ki, hogy magas szinten, sejtenként körülbelül 75 000 molekulával fejezze ki a HER2 receptort. Ezt a sejtvonalat az inscreenex landing pad technológiájával fejlesztették ki, amely biztosítja a HER2 gén pontos és reprodukálható integrációját egy specifikus, előzetesen validált genomikus lókuszban. A HER2, más néven ERBB2 vagy CD340, egy receptor-tirozin-kináz, amely az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) családhoz tartozik. A HER2 döntő szerepet játszik a sejtek növekedésében és differenciálódásában, gyakran heterodimereket képezve más EGFR-családtagokkal, például az EGFR-rel, a HER3-mal vagy a HER4-gyel, hogy elősegítse a sejtek szaporodását. A HER2 túlzott expressziója szoros kapcsolatban áll bizonyos rákos megbetegedésekkel, különösen az emlő- és petefészekrákkal, ami kritikus célponttá teszi a rákterápiák számára, beleértve a trastuzumab (Herceptin) és a pertuzumab (Perjeta) monoklonális antitesteket is. A HER2 expresszióját ebben a sejtvonalban áramlási citometriával, célspecifikus antitest segítségével igazolták, biztosítva a sejtpopulációban a receptorok megbízható és konzisztens sűrűségét.
Organism	Emberi
Tissue	Magzati vese
Disease	Átalakított/halhatatlanná tett; nem tumorigenikus (HEK293 háttér)
Applications	HER2-ellenes antitestek fejlesztése (trastuzumab, pertuzumab-analógok); ADC-szűrés; ADCC/CDC-vizsgálatok; emlő-, gyomor- és tüdőrák elleni terápiák; bispecifikus antitestek tervezése

Jellemzők

Age	Magzat
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű
Cell type	Epithel sejtek
Growth properties	Monoréteg, tapadó

HEK293-HER2 sejtek | 305422

Szabályozási adatok

Citation	HEK293-HER2 (Cytion katalógusszám: 305422)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G26
GMO Status	GMO-S1: Ez a HEK293-származék humán HER2-expressziós konstrukciót tartalmaz, amely lehetővé teszi a célzott terápiát és a receptor jelátviteli vizsgálatokat. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	HER2

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 1 mM nátrium-piruváttal, 10 mM HEPES-szel, 1% NEAA-val. Adjunk hozzá Geneticint (G418-Sulfat), hogy a végső koncentráció 1 mg/ml legyen.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	kb. 24–36 óra
Subculturing	Rutinszerű adherens sejtkultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombikhoz, 3 ml T75 lombikhoz), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on, amíg a sejtek leválnak (5-10 perc). Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. Ha a sejtek leváltak, adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtszuszpenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5%$_{CO2\text{-ra}}$ beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.
Split ratio	1–5

HEK293-HER2 sejtek | 305422

Seeding density	2–4 x 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	A felolvasztás után osszuk a sejteket 1:2-1:3 arányban T25 lombikokba, és hagyjuk, hogy a sejtek legalább 24 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból és megtapadjanak. A sejtek felolvasztása után a legjobb kötődés és életképesség érdekében javasoljuk, hogy a mélyhűtés utáni első beültetéshez kollagénnel bevont lombikokat vagy lemezeket használjunk. A sejtek későbbi rutinszerű tenyésztéséhez nincs szükség kollagénbevonatra.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HEK293-HER2 sejtek | 305422

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.

2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.

3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.

4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.

5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.

6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.

7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.

8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.