

HEK293-FAP ląstelės | 305419

Bendra informacija

Description

Atsakomybės apribojimas: Nurodytos ląstelių linijų kainos taikomos tik akademiniam ir nekomerciniam klientams. Komercinėms įmonėms kaina yra apie 6 250 EUR.

Jei atstovaujate komercinei įmonei arba nesate tikri, kuri kategorija jums taikoma, prašome [susisiekti su mumis](#).

HEK293-FAP ląstelių linija yra stabili rekombinuota HEK293 ląstelių linija, sukurta taip, kad ekspresuotų fibroblastų aktyvacijos baltymą (FAP) dideliu lygiu – maždaug 123 000 molekulių vienoje ląstelėje. Ši ląstelių linija buvo sukurta naudojant „inscreenex“ „landing pad“ technologiją, užtikrinančią tikslų ir atkartojamą FAP geno integravimą į konkretų, iš anksto patvirtintą genomo lokusą. FAP, taip pat žinomas kaip Seprase arba DPPIV, yra serino proteazė, dalyvaujanti ekstraląstelinio matrikso pertvarkyme, kuris yra ypač svarbus tokiuose procesuose kaip žaizdų gijimas, audinių atsinaujinimas ir fibrozė. FAP taip pat yra labai sureguliuotas daugelio epitelinių vėžio formų stromoje, todėl jis yra vertingas onkologinių tyrimų taikynys ir potencialus su vėžiu susijusių fibroblastų biomarkeris.

FAP ekspresija šioje ląstelių linijoje buvo patvirtinta naudojant srauto citometriją su tiksliniais antikūnais, užtikrinant nuoseklų ir patikimą receptorių tankį visoje ląstelių populiacijoje.

Organism

Žmogus

Tissue

Vaisiaus inkstai

Disease

Transformuotas/imortalizuotas; nesukelia navikų (HEK293 fonas)

Applications

FAP-specifinių antikūnų ir imunoterapijos kūrimas; naviko stromos biologija; su vėžiu susijusių fibroblastų (CAF) tyrimai; ADC ir bispecifinių antikūnų inžinerija; onkologinis atrankinis tyrimas

Charakteristikos

Age

Vaisius

Gender

Moteris

Morphology

Į epitelį panašus

Cell type

Epitelio ląstelės

Growth properties

Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

HEK293-FAP ląstelės | 305419

Citation	HEK293-FAP (Cytion katalogo numeris 305419)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G23
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.

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 genocidą (G418-Sulfat), kad galutinė koncentracija būtų 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsino ir EDTA
Doubling time	maždaug 24–36 valandos
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 perkelkite 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.
Split ratio	1-5
Seeding density	2-4 x 10 ⁴ ląstelės/cm ²

HEK293-FAP ląstelės | 305419

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 plokšteles 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.

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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.

HEK293-FAP ląstelės | 305419

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating Nėra

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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

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 perkeliant į skystą 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.