

Komórki HEK293-FAP | 305419

Informacje ogólne

Description

Zastrzeżenie: Podane ceny linii komórkowych dotyczą wyłącznie klientów akademickich lub organizacji non-profit. W przypadku podmiotów komercyjnych cena wynosi około 6 250 euro.

Jeśli reprezentujesz podmiot komercyjny lub nie masz pewności, która kategoria ma zastosowanie, prosimy o [kontakt](#).

Linia komórkowa HEK293-FAP to stabilna, rekombinowana linia komórkowa HEK293, zmodyfikowana genetycznie w celu ekspresji białka aktywującego fibroblasty (FAP) na wysokim poziomie, wynoszącym około 123 000 cząsteczek na komórkę. Linia ta została opracowana przy użyciu technologii „landing pad” firmy inscreenex, zapewniającej precyzyjną i powtarzalną integrację genu FAP w określonym, wstępnie zweryfikowanym locus genomowym. FAP, znany również jako Seprase lub DPPIV, jest proteazą serynową biorącą udział w przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej, co ma szczególne znaczenie w procesach takich jak gojenie się ran, naprawa tkanek i zwłóknienie. FAP jest również silnie regulowany w górę w zrębie wielu nowotworów nabłonkowych, co czyni go cennym celem badań onkologicznych i potencjalnym biomarkerem dla fibroblastów związanych z rakiem.

Ekspresję FAP w tej linii komórkowej potwierdzono za pomocą cytometrii przepływowej z użyciem przeciwciała specyficznego dla celu, zapewniając spójną i wiarygodną gęstość receptorów w całej populacji komórek.

Organism Człowiek

Tissue Nerka płodu

Charakterystyka

Age Płód

Gender Kobieta

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation HEK293-FAP (numer katalogowy Cytion 305419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Komórki HEK293-FAP | 305419

GMO Status GMO-S1: Ta pochodna HEK293 zawiera konstrukt ekspresji białka aktywacji fibroblastów (FAP) do badań funkcji receptora. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Receptors expressed FAP (Seprase lub DPPIV)

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 1 mM pirogronianu sodu, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Dodać Geneticin (G418-Sulfat), aby osiągnąć końcowe stężenie 1 mg/ml.

Dissociation Reagent Trypsyna-EDTA

Subculturing W przypadku rutynowej hodowli komórek przylegających: Odessać starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS w celu usunięcia pozostałości pożywki. Po odessaniu PBS, dodać odpowiednią objętość roztworu Trypsyna/EDTA w zależności od wielkości naczynia hodowlanego (np. 1 ml dla kolby T25, 3 ml dla kolby T75) i inkubować w temperaturze pokojowej lub 37°C do momentu odłączenia się komórek (5-10 minut). Monitoruj oderwanie pod mikroskopem i delikatnie postukaj w naczynie, jeśli to konieczne, aby uwolnić komórki. Po odłączeniu dodać pełną pożywkę w celu inaktywacji trypsyny/EDTA, delikatnie ponownie zawiesić komórki i przenieść porcję zawiesiny komórek do nowego naczynia hodowlanego zawierającego świeżą pożywkę. Umieść naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5%_{CO2} i zmieniaj pożywkę co 2-3 dni.

Split ratio Stosunek 1:2 jest zalecany dla początkowego podziału po rozmrożeniu. Stosunek 1:5 do 1:10 jest zalecany do rutynowej hodowli.

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu podziel komórki w stosunku od 1:2 do 1:3 na kolby T25 i pozwól komórkom na regenerację po procesie zamrażania i przyleganie przez co najmniej 24 godziny.

Aby uzyskać najlepsze przyleganie i żywotność po rozmrożeniu komórek, zalecamy użycie kolb lub płytek pokrytych kolagenem do początkowego wysiewu po krioregeneracji. Powłoka kolagenowa nie jest wymagana do późniejszej rutynowej hodowli komórek.

Komórki HEK293-FAP | 305419**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki HEK293-FAP | 305419

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.