Product sheet

Komórki HEK293-CXCR4 | 305420

Informacje ogólne

Description	**Zastrzeżenie: Podane ceny linii komórkowych dotyczą wyłącznie klientów akademickich lub organizacji non-profit. Dla 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-CXCR4 to stabilna, rekombinowana linia komórkowa HEK293, zmodyfikowana genetycznie w celu ekspresji receptora CXCR4 na średnio-wysokim poziomie, wynoszącym około 7800 cząsteczek na komórkę. Linia ta została opracowana przy użyciu technologii „landing pad" firmy inscreenex, która zapewnia precyzyjną i powtarzalną integrację genu CXCR4 w określonym, wstępnie zweryfikowanym locus genomowym. CXCR4, znany również jako CD184, jest receptorem chemokinowym należącym do rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR). Odgrywa kluczową rolę w migracji komórek odpornościowych, hematopoezie oraz służy jako koreceptor umożliwiający wejście wirusa HIV do komórek. CXCR4 ma również wpływ na wzrost nowotworów, przerzuty i angiogenezę, szczególnie w przypadku nowotworów hematologicznych, co czyni go istotnym celem w badaniach nad rakiem i opracowywaniu terapii. Ekspresję CXCR4 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
Disease	Zmodyfikowane/unieśmiertelnione; nie wywołujące nowotworów (na tle komórek HEK293)
Applications	Opracowywanie przeciwciał skierowanych przeciwko CXCR4; farmakologia receptorów GPCR; badania nad szlakami sygnałowymi SDF-1/CXCL12; badania nad koreceptorami wirusa HIV; przesiewanie leków przeciwnowotworowych i przeciwdziałających przerzutom

Charakterystyka

Age	Płód
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka
Cell type	Komórki nabłonkowe
Growth properties	Monowarstwa, przylegająca

Product sheet

Komórki HEK293-CXCR4 | 305420

Dane regulacyjne

Citation	HEK293-CXCR4 (numer katalogowy Cytion 305420)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G21
GMO Status	GMO-S1: Ta zmodyfikowana linia HEK293 zawiera kasetę ekspresyjną CXCR4 do analiz sygnalizacji GPCR i wiązania ligandów. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Receptors expressed	CXCR4 (CD184)

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
Doubling time	ok. 24–36 godzin
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	od 1 do 5

Komórki HEK293-CXCR4 | 305420

Seeding density	2 do 4 x 10^{4} komórek/cm^{2}
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.
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.

Komórki HEK293-CXCR4 | 305420

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 przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem. 5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając. 6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x 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%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
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.

Komórki HEK293-CXCR4 | 305420

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 i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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.