

Клетки HEK293-F | 300260

Обща информация

Description

Клетките HEK293-F са бързо растяща, силно трансфектируема подлиния, получена от клетъчната линия човешки ембрионален бъбрек 293 (HEK293). Обозначението "F" показва, че тези клетки са адаптирани за растеж в суспензионни култури, което ги прави особено полезни за широкомащабно производство на протеини. Клетките растат в различни среди без серум, което улеснява мащабируемите процеси в биотехнологичните и фармацевтичните приложения. Клетките HEK293-F запазват епителната морфология на изходната линия HEK293 и се поддържат в суспензия, без да е необходимо да се прикрепят към твърд субстрат.

Тези клетки са високо ефективни при експресията на рекомбинантни протеини и се използват широко при производството на вирусни вектори за генна терапия, включително аденовирусни, лентивирусни и ретровирусни вектори. Техният стабилен растеж в суспензия и лесната трансфекция ги правят идеални за използване в протоколи за преходна трансфекция, при които могат да произвеждат високи добиви на протеини в рамките на няколко дни след трансфекцията. Тази характеристика е от решаващо значение за бързите производствени цикли в изследователската и промишлената сфера. Адаптивността на клетките HEK293-F към различни условия на растеж и способността им за култивиране с висока плътност повишават полезността им в средите за биопереработка.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Applications Гостоприемник за трансфекция

Synonyms HEK-293-F, HEK 293-F, HEK-293F, HEK293F, 293-F, 293 F, 293F

Характеристики

Age Плод

Gender Жена

Morphology Подобни на епител

Growth properties Окачване

Регулаторни данни

Citation HEK293-F (каталожен номер 300260 на Cytion)

Клетки HEK293-F | 300260

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6642**GMO Status** GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293-F съдържа SV40, което осигурява висока ефективност на трансфекцията и стабилен растеж в суспензионна култура. Модификацията е стабилно присъстваща в ембрионалните бъбречни клетки. Тази класификация важи само на територията на Германия и може да се различава в други държави.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed Витронектин**Protein expression** СЕА отрицателен, р53 положителен**Tumorigenic** При голи мишки**Viruses** Трансформирани с аденовирус 5 ДНК аденовирус 5 ДНК

Работа с

Culture Medium CD293 (Thermo)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 часа**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Клетки HEK293-F | 300260

Seeding density 1 x 10⁴ клетки/см² ще дадат конфулентен слой за около 4 дни

Fluid renewal 2 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10⁴ клетки/см² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки HEK293-F | 300260

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.