

HEK293-F-celler | 300260

Generel information

Description

HEK293-F-celler er en hurtigt voksende, meget transfekterbar sublinje, der stammer fra den humane embryonale nyre 293 (HEK293) cellelinje. F-betegnelsen indikerer, at disse celler er blevet tilpasset til vækst i suspensionskulturer, hvilket gør dem særligt anvendelige til proteinproduktion i stor skala. Cellerne vokser i en række forskellige serumfrie medier, hvilket letter skalerbare processer i bioteknologiske og farmaceutiske anvendelser. HEK293-F-celler bevarer den epitellignende morfologi fra den oprindelige HEK293-linje og opretholdes i suspension uden behov for fastgørelse til et fast substrat.

Disse celler er meget effektive til at udtrykke rekombinante proteiner og anvendes i vid udstrækning til produktion af virale vektorer til genterapi, herunder adenovirale, lentivirale og retrovirale vektorer. Deres robuste vækst i suspension og lette transfektion gør dem ideelle til brug i transiente transfektionsprotokoller, hvor de kan producere høje udbytter af protein inden for få dage efter transfektion. Denne egenskab er afgørende for hurtige produktionscyklusser inden for forskning og industri. HEK293-F-cellernes tilpasningsevne til forskellige vækstbetingelser og deres evne til at dyrke med høj tæthed forbedrer deres anvendelighed i bioprocsmiljøer.

Organism Menneske

Tissue Nyre

Applications Vært for transfektion

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

Karakteristika

Age Foster

Gender Kvinde

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Ophængning

Regulatoriske data

Citation HEK293-F (Cytion katalognummer 300260)

Biosafety level 1

HEK293-F-celler | 300260

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6642**GMO Status** GMO-S1: Denne HEK293-F-cellelinje indeholder SV40, hvilket muliggør høj transfektionseffektivitet og robust vækst i suspensionskultur. Modifikationen er stabilt til stede i embryonale nyreceller. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.**Biomolekylære data****Receptors expressed** Vitronektin**Protein expression** CEA-negativ, p53-positiv**Tumorigenic** I nøgne mus**Viruses** Transformeret med adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA**Håndtering****Culture Medium** CD293 (Thermo)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 timer**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 1×10^4 celler/cm² vil danne et sammenhængende lag på ca. 4 dage.**Fluid renewal** 2 gange om ugen

HEK293-F-celler | 300260

Post-Thaw Recovery

Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysingsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

HEK293-F-celler | 300260

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.