

Κύτταρα HEK293-F | 300260

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα HEK293-F είναι μια ταχέως αναπτυσσόμενη, εξαιρετικά μεταγίσιμη υποκατηγορία που προέρχεται από την ανθρώπινη εμβρυϊκή νεφρική σειρά 293 (HEK293). Η ονομασία "F" υποδηλώνει ότι τα κύτταρα αυτά έχουν προσαρμοστεί για ανάπτυξη σε καλλιέργειες εναιωρήματος, γεγονός που τα καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμα για την παραγωγή πρωτεϊνών μεγάλης κλίμακας. Τα κύτταρα αναπτύσσονται σε μια ποικιλία μέσων χωρίς ορό, διευκολύνοντας τις κλιμακούμενες διεργασίες σε βιοτεχνολογικές και φαρμακευτικές εφαρμογές. Τα κύτταρα HEK293-F διατηρούν τη μορφολογία που μοιάζει με επιθήλιο της μητρικής σειράς HEK293 και διατηρούνται σε εναιώρημα χωρίς την ανάγκη προσκόλλησης σε στερεό υπόστρωμα.

Τα κύτταρα αυτά είναι εξαιρετικά αποτελεσματικά στην έκφραση ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών και χρησιμοποιούνται ευρέως στην παραγωγή ιικών φορέων για γονιδιακή θεραπεία, συμπεριλαμβανομένων των αδενοϊκών, λεντιϊκών και ρετροϊκών φορέων. Η εύρωστη ανάπτυξή τους σε εναιώρημα και η ευκολία της διαμόλυνσης τα καθιστούν ιδανικά για χρήση σε πρωτόκολλα παροδικής διαμόλυνσης, όπου μπορούν να παράγουν υψηλές αποδόσεις πρωτεϊνών μέσα σε λίγες ημέρες μετά τη διαμόλυνση. Αυτό το χαρακτηριστικό είναι κρίσιμο για ταχείς κύκλους παραγωγής σε ερευνητικά και βιομηχανικά περιβάλλοντα. Η προσαρμοστικότητα των κυττάρων HEK293-F σε διάφορες συνθήκες ανάπτυξης και η ικανότητά τους για καλλιέργεια υψηλής πυκνότητας ενισχύουν τη χρησιμότητά τους σε περιβάλλοντα βιοεπεξεργασίας.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Νεφρός

Applications

Ξενιστής διαμόλυνσης

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Age

Έμβρυο

Gender

Γυναίκα

Morphology

Επιθηλιοειδής

Growth properties

Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation

HEK293-F (αριθμός καταλόγου Cytion 300260)

Κύτταρα HEK293-F | 300260

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6642**GMO Status** GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά HEK293-F περιέχει τον ιό SV40, γεγονός που εξασφαλίζει υψηλή απόδοση μεταφοράς γονιδίου και ισχυρή ανάπτυξη σε καλλιέργεια εν αιωρήματος. Η τροποποίηση αυτή είναι σταθερά παρούσα στα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα. Η εν λόγω ταξινόμηση ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.**Βιομοριακά δεδομένα****Receptors expressed** Βιτρονεκτίνη**Protein expression** CEA αρνητικό, p53 θετικό**Tumorigenic** Σε γυμνά ποντίκια**Viruses** Μετασηματισμένο με DNA αδενοϊού 5 DNA αδενοϊού 5**Χειρισμός****Culture Medium** CD293 (Thermo)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 ώρες**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα HEK293-F | 300260

Seeding density 1×10^4 κύτταρα/cm² θα αποδώσουν ένα συρρέον στρώμα σε περίπου 4 ημέρες

Fluid renewal 2 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HEK293-F | 300260

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating Κανένα

Freezing Procedure Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.