

HEK293-F rakud | 300260

Üldine teave

Description

HEK293-F rakud on inimese embrüonaalse neeru 293 (HEK293) rakuliinist saadud kiiresti kasvav, hästi transfitseeritav alaliin. Tähistus "F" näitab, et need rakud on kohandatud kasvamiseks suspensioonikultuurides, mis muudab need eriti kasulikuks suuremahuliseks valkude tootmiseks. Rakud kasvavad mitmesugustes seerumivabades keskkondades, mis hõlbustab biotehnoloogilistes ja farmaatsiatööstuslikes rakendustes kasutatavaid skaleeritavaid protsesse. HEK293-F rakud säilitavad algse HEK293 liini epiteelilaadse morfoloogia ja neid hoitakse suspensioonis, ilma et neid oleks vaja kinnitada tahke substraadi külge.

Need rakud on väga tõhusad rekombinantsete valkude ekspresseerimisel ja neid kasutatakse laialdaselt geeniteraapia viirusvektorite, sealhulgas adenoviirus-, lentiviirus- ja retroviirusvektorite tootmisel. Nende tugev kasv suspensioonis ja lihtne transfektsioon muudavad nad ideaalseks kasutamiseks transientse transfektsiooni protokollides, kus nad suudavad toota suure valgu saagise mõne päeva jooksul pärast transfektsiooni. See omadus on kriitilise tähtsusega kiirete tootmistsüklite jaoks teadusuuringutes ja tööstuslikes tingimustes. HEK293-F rakkude kohanemisvõime erinevate kasvutingimustega ja nende võime kasvatada suure tihedusega rakke suurendavad nende kasulikkust biotöötluskeskkondades.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Applications Transfektsiooni peremees

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

Omadused

Age Loote

Gender Naised

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation HEK293-F (Cytioni katalooginumber 300260)

Biosafety level 1

HEK293-F rakud | 300260

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6642

GMO Status GMO-S1: See HEK293-F rakuliin sisaldab SV40-viirust, mis tagab kõrge transfektsiooniefektiivsuse ja tugeva kasvu suspensioonikultuuris. See modifikatsioon on embrüonaalsetes neerurakkudes stabiilselt esindatud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Vitronektiin

Protein expression CEA negatiivne, p53 positiivne

Tumorigenic Alasti hiirtel

Viruses Transformeeritud adenoviiruse 5 DNAGA adenoviiruse 5 DNAGA

Töötlemine

Culture Medium CD293 (Thermo)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAGA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm² moodustab umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.

Fluid renewal 2 korda nädalas

HEK293-F rakud | 300260

Post-Thaw Recovery

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

HEK293-F rakud | 300260

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.