

HEK293-F sejtek | 300260

Általános információk

Description

A HEK293-F sejtek a humán embrionális vese 293 (HEK293) sejtvonalból származó, gyorsan növekvő, jól transzfektálható alvonal. Az "F" jelölés azt jelzi, hogy ezeket a sejteket szuszpenziós kultúrákban történő növekedésre adaptálták, ami különösen hasznos a nagyléptékű fehérje előállításához. A sejtek számos szérummentes közegben növekednek, megkönnyítve a biotechnológiai és gyógyszeripari alkalmazásokban a skálázható folyamatokat. A HEK293-F sejtek megtartják az eredeti HEK293 vonal epithelszerű morfológiáját, és szuszpenzióban tarthatók, szilárd szubsztrátumhoz való rögzítés nélkül.

Ezek a sejtek rendkívül hatékonyan expresszálják a rekombináns fehérjéket, és széles körben használják őket génterápiás célú vírusvektorok, többek között adenovirális, lentivirális és retrovirális vektorok előállítására. Szuszpenzióban való robusztus növekedésük és könnyű transzfecciójuk miatt ideálisak a tranziens transzfecció protokollokban való felhasználásra, ahol a transzfecciót követő néhány napon belül nagy mennyiségű fehérjét tudnak előállítani. Ez a tulajdonság kritikus fontosságú a kutatási és ipari környezetben a gyors termelési ciklusok szempontjából. A HEK293-F sejtek különböző növekedési feltételekhez való alkalmazkodóképessége és a nagy sűrűségű tenyésztésre való képességük növeli hasznosságukat a biotechnológiai környezetekben.

Organism

Emberi

Tissue

Vese

Applications

Transzfecció gazdatest

Synonyms

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

Jellemzők

Age

Magzat

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Felfüggesztés

Szabályozási adatok

Citation

HEK293-F (Cytion katalógusszám: 300260)

Biosafety level

1

HEK293-F sejtek | 300260

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6642

GMO Status GMO-S1: Ez a HEK293-F sejt vonal SV40-et tartalmaz, ami magas transzfekeció hatékonyaságot és erőteljes növekedést tesz lehetővé szuszpenziós tenyészetben. A módosítás stabilan jelen van az embrionális vese sejtekben. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed Vitronectin**Protein expression** CEA negatív, p53 pozitív**Tumorigenic** Meztelen egerekben**Viruses** Adenovírus 5 DNS-sel átalakítva adenovírus 5 DNS-sel

A kezelése

Culture Medium CD293 (Thermo)**Supplements** A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm² körülbelül 4 nap alatt konfluens réteget képez.

HEK293-F sejtek | 300260

Fluid renewal hetente 2 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere 37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

HEK293-F sejtek | 300260

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.