

Cellule HEK293-F | 300260

Informazioni generali

Description

Le cellule HEK293-F sono una sottoclasse a crescita rapida e altamente trasfettabile derivata dalla linea cellulare del rene embrionale umano 293 (HEK293). La designazione "F" indica che queste cellule sono state adattate per la crescita in colture in sospensione, rendendole particolarmente utili per la produzione di proteine su larga scala. Le cellule crescono in una varietà di terreni privi di siero, facilitando i processi scalabili nelle applicazioni biotecnologiche e farmaceutiche. Le cellule HEK293-F mantengono la morfologia epiteliale della linea madre HEK293 e sono mantenute in sospensione senza bisogno di essere attaccate a un substrato solido.

Queste cellule sono altamente efficienti nell'esprimere proteine ricombinanti e sono ampiamente utilizzate nella produzione di vettori virali per la terapia genica, compresi vettori adenovirali, lentivirali e retrovirali. La loro robusta crescita in sospensione e la facilità di trasfezione li rendono ideali per l'uso in protocolli di trasfezione transiente, dove possono produrre elevate rese di proteine in pochi giorni dopo la trasfezione. Questa caratteristica è fondamentale per cicli di produzione rapidi nella ricerca e nell'industria. L'adattabilità delle cellule HEK293-F a varie condizioni di crescita e la loro capacità di coltura ad alta densità ne aumentano l'utilità negli ambienti di bioprocesso.

Organism Umano

Tissue Rene

Applications Ospite di trasfezione

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

Caratteristiche

Age Feto

Gender Donna

Morphology Simile all'epitelio

Growth properties Sospensione

Dati normativi

Citation HEK293-F (catalogo Cytion numero 300260)

Biosafety level 1

Cellule HEK293-F | 300260

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6642**GMO Status** GMO-S1: Questa linea cellulare HEK293-F contiene il virus SV40, il che garantisce un'elevata efficienza di trasfezione e una crescita robusta in coltura in sospensione. La modificazione è presente in modo stabile nelle cellule renali embrionali. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.**Dati biomolecolari****Receptors expressed** Vitronectina**Protein expression** CEA negativo, p53 positivo**Tumorigenic** In topi nudi**Viruses** Trasformato con adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA**Manipolazione****Culture Medium** CD293 (Thermo)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 ore**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4

Cellule HEK293-F | 300260

Seeding density 1 x 10⁴ cellule/cm² produrrà uno strato confluyente in circa 4 giorni

Fluid renewal 2 volte a settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5 x 10⁴ cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Cellule HEK293-F | 300260

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

PEZ6: Jiyoye