

Celice HEK293-F | 300260

Splošne informacije

Description

Celice HEK293-F so hitro rastoča podlinija z visoko stopnjo transfekcije, ki izhaja iz celične linije človeških embrionalnih ledvic 293 (HEK293). Oznaka "F" pomeni, da so te celice prilagojene za rast v suspenzijskih kulturah, zaradi česar so še posebej uporabne za obsežno proizvodnjo beljakovin. Celice rastejo v različnih medijih brez seruma, kar olajša razširljive postopke v biotehnoloških in farmacevtskih aplikacijah. Celice HEK293-F ohranijo epiteljsko morfologijo osnovne linije HEK293 in se vzdržujejo v suspenziji brez potrebe po pritrditvi na trdno podlago.

Te celice so zelo učinkovite pri izražanju rekombinantnih beljakovin in se pogosto uporabljajo pri proizvodnji virusnih vektorjev za gensko terapijo, vključno z adenovirusnimi, lentivirusnimi in retrovirusnimi vektorji. Zaradi njihove močne rasti v suspenziji in enostavne transfekcije so idealne za uporabo v protokolih prehodne transfekcije, kjer lahko v nekaj dneh po transfekciji proizvedejo velike količine beljakovin. Ta lastnost je ključnega pomena za hitre proizvodne cikle v raziskovalnih in industrijskih okoljih. Prilagodljivost celic HEK293-F različnim pogojem rasti in njihova sposobnost gojenja z veliko gostoto povečujeta njihovo uporabnost v okoljih bioprosesinga.

Organism Človek

Tissue Ledvice

Applications Gostitelj za transfekcijo

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

Značilnosti

Age Plod

Gender Ženske

Morphology Epitelijam podobni

Growth properties Vzmetenje

Regulativni podatki

Citation HEK293-F (kataloška številka Cytion 300260)

Biosafety level 1

Celice HEK293-F | 300260

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6642**GMO Status** GMO-S1: Ta celična linija HEK293-F vsebuje virus SV40, kar omogoča visoko učinkovitost transfekcije in močno rast v suspenzijski kulturi. Ta modifikacija je stabilno prisotna v embrionalnih ledvičnih celicah. Ta razvrstitev velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.**Biomolekularni podatki****Receptors expressed** Vitronektin**Protein expression** CEA negativen, p53 pozitiven**Tumorigenic** Na golih miših**Viruses** Transformacija z adenovirusom 5 DNK adenovirus 5 DNK**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** CD293 (Thermo)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 1×10^4 celic/cm² bo v približno 4 dneh oblikovalo konfluentno plast.**Fluid renewal** 2-krat na teden

Celice HEK293-F | 300260

Post-Thaw Recovery

Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataložka številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Celice HEK293-F | 300260

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.