

HEK293-F Hücreleri | 300260

Genel bilgi

Description

HEK293-F hücreleri, insan embriyonik böbrek 293 (HEK293) hücre hattından türetilen, hızlı büyüyen, yüksek oranda transfekte edilebilir bir alt hattır. 'F' tanımı, bu hücrelerin süspansiyon kültürlerinde büyümeye adapte edildiğini gösterir ve bu da onları büyük ölçekli protein üretimi için özellikle kullanışlı hale getirir. Hücreler çeşitli serum içermeyen ortamlarda büyüyerek biyoteknolojik ve farmasötik uygulamalarda ölçeklenebilir süreçleri kolaylaştırır. HEK293-F hücreleri, ana HEK293 hattının epitel benzeri morfolojisini korur ve katı bir alt tabakaya bağlanmaya gerek kalmadan süspansiyon halinde tutulur.

Bu hücreler rekombinant proteinlerin ekspresyonunda oldukça etkilidir ve adenoviral, lentiviral ve retroviral vektörler dahil olmak üzere gen tedavisi için viral vektörlerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Süspansiyonda sağlam büyümeleri ve transfeksiyon kolaylığı, transfeksiyon sonrası birkaç gün içinde yüksek protein verimi üretebildikleri geçici transfeksiyon protokollerinde kullanım için idealdir. Bu özellik, araştırma ve endüstriyel ortamlarda hızlı üretim döngüleri için kritik öneme sahiptir. HEK293-F hücrelerinin çeşitli büyüme koşullarına uyarlanabilirliği ve yüksek yoğunluklu kültür kapasiteleri, biyoişlem ortamlarındaki kullanımlarını artırır.

Organism

İnsan

Tissue

Böbrek

Applications

Transfeksiyon konağı

Synonyms

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

Özellikler

Age

Fetüs

Gender

Kadın

Morphology

Epitel benzeri

Growth properties

Süspansiyon

Düzenleyici Veriler

Citation

HEK293-F (Cytion katalog numarası 300260)

Biosafety level

1

HEK293-F Hücreleri | 300260

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6642**GMO Status** GMO-S1: Bu HEK293-F hücre hattı SV40 içerir; bu sayede süspansiyon kültüründe yüksek transfeksiyon verimliliği ve sağlam büyüme sağlanır. Bu modifikasyon, embriyonik böbrek hücrelerinde kalıcı olarak mevcuttur. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Receptors expressed Vitronektin**Protein expression** CEA negatif, p53 pozitif**Tumorigenic** Çıplak farelerde**Viruses** Adenovirüs 5 DNA'sı ile dönüştürülmüş adenovirüs 5 DNA'sı

Elleçleme

Culture Medium CD293 (Thermo)**Supplements** Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 saat**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1×10^4 hücre/cm² yaklaşık 4 gün içinde birleşik bir tabaka oluşturacaktır.**Fluid renewal** haftada 2 kez

HEK293-F Hücreleri | 300260**Post-Thaw Recovery**

Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HEK293-F Hücreleri | 300260

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.