

Buňky HEK293-F | 300260

Obecné informace

Description

Buňky HEK293-F jsou rychle rostoucí, vysoce transfekovatelná podlinie odvozená od buněčné linie lidských embryonálních ledvin 293 (HEK293). Označení "F" znamená, že tyto buňky byly upraveny pro růst v suspenzních kulturách, což je činí obzvláště užitečnými pro rozsáhlou produkci proteinů. Buňky rostou v různých bezsérových médiích, což usnadňuje škálovatelné procesy v biotechnologických a farmaceutických aplikacích. Buňky HEK293-F si zachovávají epitelální morfologii mateřské linie HEK293 a jsou udržovány v suspenzi bez nutnosti přichycení k pevnému substrátu.

Tyto buňky jsou vysoce účinné při expresi rekombinantních proteinů a jsou široce využívány při výrobě virových vektorů pro genovou terapii, včetně adenovirových, lentivirových a retrovirových vektorů. Díky jejich robustnímu růstu v suspenzi a snadné transfekci jsou ideální pro použití v protokolech transienční transfekce, kde mohou produkovat vysoké výtěžky proteinů během několika dní po transfekci. Tato vlastnost je rozhodující pro rychlé výrobní cykly ve výzkumu a průmyslu. Přizpůsobivost buněk HEK293-F různým růstovým podmínkám a jejich schopnost kultivace s vysokou hustotou zvyšuje jejich využitelnost v prostředí bioprocésů.

Organism

Člověk

Tissue

Ledviny

Applications

Transfekční hostitel

Synonyms

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

Charakteristika

Age

Plod

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Zavěšení

Regulační údaje

Citation

HEK293-F (katalogové číslo Cytion 300260)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Buňky HEK293-F | 300260

CellosaurusAccession CVCL_6642

GMO Status GMO-S1: Tato buněčná linie HEK293-F obsahuje sekvence SV40 Large T Antigen, což umožňuje vysokou účinnost transfekce a robustní růst v suspenzní kultuře. Modifikace je stabilně přítomna v embryonálních ledvinových buňkách. Tato klasifikace platí pouze v Německu a může se lišit v jiných zemích.

Biomolekulární data

Receptors expressed Vitronektin

Protein expression CEA negativní, p53 pozitivní

Tumorigenic U nahých myší

Viruses Transformované pomocí adenovirusové 5 DNA adenovirusové 5 DNA

Zpracování

Culture Medium CD293 (Thermo) + L-Glutamin

Supplements Doplněte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 hodin

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4

Seeding density 1×10^4 buněk/cm² vytvoří konfluentní vrstvu za přibližně 4 dny.

Buňky HEK293-F | 300260

Fluid renewal 2krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Buňky HEK293-F | 300260

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.

Profil STR

PEZ6: Jiyoye