

HEK293-F-solut | 300260

Yleisiä tietoja

Description

HEK293-F-solut ovat nopeasti kasvava, hyvin transfektoituva alalinja, joka on peräisin ihmisen alkion munuaisten 293-solulinjasta (HEK293). F-merkintä osoittaa, että nämä solut on mukautettu kasvamaan suspensioviljelmissä, mikä tekee niistä erityisen käyttökelpoisia suuren mittakaavan proteiinituotannossa. Solut kasvavat erilaisissa seerumittomissa väliaineissa, mikä helpottaa skaalautuvia prosesseja bioteknologisissa ja farmaseuttisissa sovelluksissa. HEK293-F-solut säilyttävät emolinjan HEK293 epiteelin kaltaisen morfologian, ja ne säilyvät suspensiossa ilman tarvetta kiinnittyä kiinteään substraattiin.

Nämä solut ilmentävät erittäin tehokkaasti rekombinanttiproteiineja, ja niitä hyödynnetään laajalti geeniterapiassa käytettävien virusvektoreiden, kuten adenovirus-, lentivirus- ja retrovirusvektoreiden, tuotannossa. Niiden vankka kasvu suspensiossa ja transfektion helppous tekevät niistä ihanteellisia käytettäväksi ohimenevissä transfektioprotokollissa, joissa ne voivat tuottaa suuria proteiinisatoja muutamassa päivässä transfektion jälkeen. Tämä ominaisuus on kriittinen nopeille tuotantokykleille tutkimuksessa ja teollisuudessa. HEK293-F-solujen sopeutumiskyky erilaisiin kasvuolosuhteisiin ja niiden kyky kasvattaa soluja suurella tiheydellä parantavat niiden käyttökelpoisuutta bioprosessointiympäristöissä.

Organism

Ihminen

Tissue

Munuaiset

Applications

Transfektion isäntä

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

Sikiö

Gender

Nainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Jousitus

Säätelytiedot

Citation

HEK293-F (Cytionin luettelonumero 300260)

Biosafety level

1

HEK293-F-solut | 300260

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6642

GMO Status GMO-S1: Tämä HEK293-F-solulinja sisältää SV40 Large T -antigeenisekvenssejä, jotka mahdollistavat korkean transfektiotehokkuuden ja vankan kasvun suspensioviljelmässä. Modifikaatio on stabiilisti läsnä alkion munuaissoluissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed Vitronektiini

Protein expression CEA negatiivinen, p53 positiivinen

Tumorigenic Alastomilla hiirillä

Viruses Muunnettu adenovirus 5 DNA:lla adenovirus 5 DNA:lla

Käsittely

Culture Medium CD293 (Thermo) + L-Glutamiini

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 tuntia

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm² tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 4 päivässä.

HEK293-F-solut | 300260

Fluid renewal 2 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

HEK293-F-solut | 300260

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.