

HEK293-F ląstelės | 300260

Bendra informacija

Description	HEK293-F ląstelės yra greitai augančios, labai lengvai transfektuojamos, išvestos iš žmogaus embrioninių inkstų 293 (HEK293) ląstelių linijos. "F" žymuo rodo, kad šios ląstelės pritaikytos auginti suspensinėse kultūrose, todėl jos ypač naudingos didelio masto baltymų gamybai. Ląstelės auga įvairiose terpėse be serumo, todėl jas galima pritaikyti biotechnologijose ir farmacijoje. HEK293-F ląstelės išlaiko į epitelį panašią pagrindinės HEK293 linijos morfologiją ir yra išlaikomos suspensijoje, jų nereikia tvirtinti prie kieto substrato. Šios ląstelės labai efektyviai ekspresuoja rekombinantinius baltymus ir yra plačiai naudojamos genų terapijai skirtų virusinių vektorių, įskaitant adenovirusinius, lentivirusinius ir retrovirusinius vektorius, gamybai. Dėl stipraus augimo suspensijoje ir lengvo transfekcijos atlikimo jos idealiai tinka naudoti tranzitinės transfekcijos protokoluose, kuriuose per kelias dienas po transfekcijos galima gauti didelį baltymų kiekį. Ši savybė labai svarbi greitiems gamybos ciklams mokslinių tyrimų ir pramoninėje aplinkoje. HEK293-F ląstelės gali prisitaikyti prie įvairių augimo sąlygų ir būti auginamos didelio tankio kultūroje, o tai padidina jų naudingumą biologinio apdorojimo aplinkoje.
Organism	Žmogus
Tissue	Inkstai
Applications	Transfekcijos šeimininkas
Synonyms	HEK-293-F, HEK 293-F, HEK-293F, HEK293F, 293-F, 293 F, 293F, 293F

Charakteristikos

Age	Vaisius
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation	HEK293-F (Cytion katalogo numeris 300260)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

HEK293-F ląstelės | 300260

CellosaurusAccession CVCL_6642

GMO Status GMO-S1: šioje HEK293-F ląstelių linijoje yra SV40 didžiojo T antigeno sekų, todėl ji pasižymi dideliu transfekcijos efektyvumu ir patikimu augimu suspensijos kultūroje. Ši modifikacija stabiliai yra embrioninėse inkstų ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed Vitronektinas

Protein expression CEA neigiamas, p53 teigiamas

Tumorigenic Su nuogomis pelėmis

Viruses Transformuota su adenoviruso 5 DNR adenoviruso 5 DNR

Tvarkymas

Culture Medium CD293 (Thermo) + L-glutaminas

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 valandų

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpildykite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 1×10^4 ląstelės/cm² per maždaug 4 dienas sudarys konfluentinį sluoksnį.

Fluid renewal 2 kartus per savaitę

HEK293-F ląstelės | 300260

Post-Thaw Recovery

Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

HEK293-F ląstelės | 300260

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.