

HEK293-F šūnas | 300260

Vispārīga informācija

Description

HEK293-F šūnas ir ātri augoša, ļoti labi transfekējama apakšlīnija, kas atvasināta no cilvēka embrionālo nieru 293 (HEK293) šūnu līnijas. Apzīmējums "F" norāda, ka šīs šūnas ir pielāgotas augšanai suspensijas kultūrās, padarot tās īpaši noderīgas liela mēroga proteīnu ražošanai. Šūnas aug dažādās barotnēs bez seruma, kas atvieglo mērogojamus procesus biotehnoloģijās un farmācijā. HEK293-F šūnas saglabā epitēlijuveidīgo morfoloģiju, kas raksturīga HEK293 pamatlīnijai, un tās tiek uzturētas suspensijā bez nepieciešamības piestiprināt pie cietā substrāta.

Šīs šūnas ļoti efektīvi ekspresē rekombinantus proteīnus, un tās plaši izmanto gēnu terapijas vīrusu vektoru, tostarp adenovīrusu, lentivīrusu un retrovīrusu vektoru, ražošanā. Pateicoties to stabilajai augšanai suspensijā un vieglai transfekcijai, tās ir ideāli piemērotas izmantošanai pārejas transfekcijas protokolos, kur dažu dienu laikā pēc transfekcijas var iegūt lielu olbaltumvielu daudzumu. Šī īpašība ir ļoti svarīga ātrai ražošanai pētniecībā un rūpniecībā. HEK293-F šūnu spēja pielāgoties dažādiem augšanas apstākļiem un to spēja audzēt augsta blīvuma kultūras palielina to izmantojamību bioprocēsu vidē.

Organism

Cilvēks

Tissue

Nieres

Applications

Transfekcijas saimnieks

Synonyms

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

Raksturojums

Age

Auglis

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlijuveidīgs

Growth properties

Apturēšana

Normatīvie dati

Citation

HEK293-F (Cytion kataloga numurs 300260)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HEK293-F šūnas | 300260

CellosaurusAccession CVCL_6642**GMO Status** GMO-S1: šī HEK293-F šūnu līnija satur SV40 lielā T antigēna sekvences, kas nodrošina augstu transfekcijas efektivitāti un stabilu augšanu suspensijas kultūrā. Šī modifikācija ir stabili klātesoša embrionālajās nieru šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Vitronektīns**Protein expression** CEA negatīvs, p53 pozitīvs**Tumorigenic** Plikām pelēm**Viruses** Transformēta ar adenovīrusa 5 DNS adenovīrusa 5 DNS

Darbs ar

Culture Medium CD293 (Thermo) + L-glutamīns**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 stundas**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.**Fluid renewal** 2 reizes nedēļā

HEK293-F šūnas | 300260

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

HEK293-F šūnas | 300260

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.