

Komórki HEK293-F | 300260

Informacje ogólne

Description

Komórki HEK293-F są szybko rosnącą, wysoce transfekowalną podlinią pochodzącą z linii komórek ludzkiej embrionalnej nerki 293 (HEK293). Oznaczenie "F" wskazuje, że komórki te zostały przystosowane do wzrostu w hodowlach zawieszinowych, co czyni je szczególnie przydatnymi do produkcji białek na dużą skalę. Komórki rosną w różnych pożywkach bez surowicy, co ułatwia skalowalne procesy w zastosowaniach biotechnologicznych i farmaceutycznych. Komórki HEK293-F zachowują nabłonkową morfologię macierzystej linii HEK293 i są utrzymywane w zawiesinie bez potrzeby mocowania do stałego podłoża.

Komórki te są wysoce wydajne w ekspresji białek rekombinowanych i są szeroko stosowane w produkcji wektorów wirusowych do terapii genowej, w tym wektorów adenowirusowych, lentiwirusowych i retrowirusowych. Ich silny wzrost w zawiesinie i łatwość transfekcji sprawiają, że są idealne do stosowania w protokołach przejściowej transfekcji, w których mogą wytwarzać wysoką wydajność białka w ciągu kilku dni po transfekcji. Cecha ta ma kluczowe znaczenie dla szybkich cykli produkcyjnych w badaniach i warunkach przemysłowych. Zdolność adaptacji komórek HEK293-F do różnych warunków wzrostu i ich zdolność do hodowli o wysokiej gęstości zwiększają ich użyteczność w środowiskach bioprosesowych.

Organism

Człowiek

Tissue

Nerka

Applications

Host transfekcji

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

Płód

Gender

Kobieta

Morphology

Podobny do nabłonka

Growth properties

Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation

HEK293-F (numer katalogowy Cytion 300260)

Biosafety level

1

Komórki HEK293-F | 300260

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6642

GMO Status GMO-S1: Ta linia komórkowa HEK293-F zawiera sekwencje antygenu SV40 Large T, umożliwiając wysoką skuteczność transfekcji i silny wzrost w hodowli zawiesinowej. Modyfikacja jest stabilnie obecna w embrionalnych komórkach nerki. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Receptors expressed Witronektyna

Protein expression CEA ujemny, p53 dodatni

Tumorigenic U nagich myszy

Viruses Transformowany adenowirusem 5 DNA adenowirus 5 DNA

Obsługa

Culture Medium CD293 (Thermo) + L-glutamina

Supplements Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 godzin

Subculturing Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4

Komórki HEK293-F | 300260

Seeding density 1×10^4 komórek/cm² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.

Fluid renewal 2 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieścić komórki na płycie w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostawić na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki HEK293-F | 300260

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

PEZ6: Jiyoye