

Bunky HEK293-F | 300260**Všeobecné informácie****Description**

Bunky HEK293-F sú rýchlo rastúca, vysoko transfekčná sublinia odvodená od bunkovej línie ľudských embryonálnych obličiek 293 (HEK293). Označenie "F" znamená, že tieto bunky boli prispôbené na rast v suspenzných kultúrach, vďaka čomu sú obzvlášť užitočné na výrobu proteínov vo veľkom meradle. Bunky rastú v rôznych médiách bez obsahu séra, čo uľahčuje škálovateľné procesy v biotechnologických a farmaceutických aplikáciách. Bunky HEK293-F si zachovávajú epitelovú morfológiu materskej línie HEK293 a udržiavajú sa v suspenzii bez potreby pripevnenia k pevnému substrátu.

Tieto bunky sú vysoko účinné pri expresii rekombinantných proteínov a široko sa využívajú pri výrobe vírusových vektorov na génovú terapiu vrátane adenovírusových, lentivírusových a retrovirusových vektorov. Vďaka ich robustnému rastu v suspenzii a jednoduchšej transfekcii sú ideálne na použitie v protokoloch prechodnej transfekcie, kde môžu produkovať vysoké výťažky proteínov v priebehu niekoľkých dní po transfekcii. Táto vlastnosť je rozhodujúca pre rýchle výrobné cykly vo výskumných a priemyselných podmienkach. Prispôsobivosť buniek HEK293-F rôznym podmienkam rastu a ich schopnosť kultivácie s vysokou hustotou zvyšuje ich využiteľnosť v bioprocených prostrediach.

Organism

Ľudské

Tissue

Obličky

Applications

Transfekčný hostiteľ

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

Pozastavenie

Regulačné údaje**Citation**

HEK293-F (katalógové číslo Cytion 300260)

Biosafety level

1

Bunky HEK293-F | 300260**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6642**GMO Status** GMO-S1: Táto línia buniek HEK293-F obsahuje sekvencie veľkého antigénu SV40 T, čo umožňuje vysokú účinnosť transfekcie a robustný rast v suspenznej kultúre. Modifikácia je stabilne prítomná v bunkách embryonálnych obličiek. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Vitronektín**Protein expression** CEA negatívny, p53 pozitívny**Tumorigenic** Na nahých myšiach**Viruses** Transformované adenovírusom 5 DNA adenovírusom 5 DNA**Spracovanie****Culture Medium** CD293 (Thermo) + L-Glutamin**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1×10^4 buniek/cm² vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.**Fluid renewal** 2 krát týždenne

Bunky HEK293-F | 300260

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste bunky v koncentracii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Bunky HEK293-F | 300260

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.