

Клітини HEK293-F | 300260

Загальна інформація

Description

Клітини HEK293-F - це швидкозростаюча, високотрансфектабельна сублінія, отримана з клітинної лінії 293 ембріональної нирки людини (HEK293). Позначення "F" вказує на те, що ці клітини були адаптовані для росту в суспензійних культурах, що робить їх особливо корисними для великомасштабного виробництва білка. Клітини ростуть у різноманітних безсироваткових середовищах, що полегшує масштабування процесів у біотехнологічних та фармацевтичних застосуваннях. Клітини HEK293-F зберігають епітеліоподібну морфологію батьківської лінії HEK293 і підтримуються в суспензії без необхідності прикріплення до твердого субстрату.

Ці клітини високоефективно експресують рекомбінантні білки і широко використовуються у виробництві вірусних векторів для генної терапії, включаючи аденовірусні, лентивірусні та ретровірусні вектори. Їх активний ріст у суспензії і простота трансфекції роблять їх ідеальними для використання в протоколах транзиторної трансфекції, де вони можуть виробляти високі виходи білка протягом декількох днів після трансфекції. Ця характеристика має вирішальне значення для швидких виробничих циклів у дослідницьких і промислових умовах. Пристосованість клітин HEK293-F до різних умов росту та здатність до високощільного культивування підвищують їхню корисність у біопроекторних середовищах.

Organism Людина

Tissue Нирка

Applications Хазяїн для трансфекції

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

Характеристики

Age Плід

Gender Жінка

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Підвіска

Нормативні дані

Citation HEK293-F (номер за каталогом Cytion 300260)

Biosafety level 1

Клітини HEK293-F | 300260

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6642

GMO Status ГМО-S1: Ця клітинна лінія HEK293-F містить послідовності великого Т-антигену SV40, що забезпечує високу ефективність трансфекції та стійкий ріст у суспензійній культурі. Модифікація стабільно присутня в ембріональних клітинах нирок. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Receptors expressed Вітронектин**Protein expression** СЕА негативний, р53 позитивний**Tumorigenic** У голих мишей**Viruses** Трансформовані аденовірусом 5 ДНК аденовірусом 5 ДНК

Обробка

Culture Medium CD293 (Thermo) + L-глутамін**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA**Dissociation Reagent** Аккутаза**Doubling time** 30 годин

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density 1×10^4 клітин/ cm^2 дасть злитий шар приблизно за 4 дні

Клітини HEK293-F | 300260

Fluid renewal 2 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/ cm^2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.**Thawing and Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Клітини HEK293-F | 300260

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазموю виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.