Product sheet

Адаптирани към суспензия HEK293 | 300686

Обща информация

Description	Клетъчната линия HEK293, адаптирана към суспензия, е вариант на човешките ембрионални бъбречни клетки 293 (HEK293), който е модифициран да расте в суспензионна култура, а не в адхезионна. Тази адаптация е от значение за промишлени приложения, при които се изисква широкомащабно производство на протеини. Клетките запазват много от характеристиките на оригиналната линия HEK293, включително стабилна ефективност на преходна трансфекция и способност за посттранслационно модифициране на експресирани протеини по начин, подобен на този на естествените човешки клетки. Тези клетки са особено ценени в биотехнологичната и фармацевтичната промишленост за производство на рекомбинантни протеини и вируси за генна терапия и разработване на ваксини. Адаптирането към суспензионна култура позволява по-лесно мащабиране и опростява процеса на събиране на реколтата, което я прави по-подходяща за биопреработка в търговски мащаб. Адаптираната към суспензия клетъчна линия HEK293 поддържа различни системи за производство на вируси, включително аденовируси, лентивируси и аденоасоциирани вируси (AAV), които са от основно значение за терапевтичните приложения и изследвания. Като цяло клетъчната линия HEK293, адаптирана към суспензия, е важен инструмент в областта на молекулярната биология и биопреработката, като осигурява универсална платформа за производство на различни биологично активни молекули. Лесната ѝ генетична манипулация и способността ѝ да произвежда протеини, които са правилно нагънати и посттранслационно модифицирани според моделите на човешките клетки, я правят незаменим ресурс в много съвременни терапевтични и изследователски среди.
Organism	Човек
Tissue	Бъбреци
Applications	Гостоприемник за трансфекция

Характеристики

Age	Плод
Gender	Жена
Morphology	Кръгла
Growth properties	Окачване

Регулаторни данни

Адаптирани към суспензия HEK293 | 300686

Citation	HEK293 суспензия-адаптирана (каталожен номер 300686 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293, адаптирана за суспензия, съдържа E1 последователности, получени от аденовирус 5 от родителската линия HEK293, което поддържа висока пролиферативна способност и способност за експресия на протеини. Модификацията е стабилно присъстваща в трансформираните ембрионални бъбречни клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Витронектин
Protein expression	CEA отрицателен, p53 положителен
Tumorigenic	При голи мишки
Virus susceptibility	Трансформирани с аденовирус 5 ДНК аденовирус 5 ДНК

Работа с

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Германия)
Supplements	Не се изискват добавки
Dissociation Reagent	Не се изисква

Адаптирани към суспензия HEK293 | 300686

Subculturing	Поддържайте суспензионните клетки при клетъчна плътност между 5 x 10^5 и 2-3 x 10^6 клетки/ml в епруветки за клетъчна култура Eppendorf на шейкър в инкубатор при 37°C/5% CO_2. Извършете субкултура, след като клетъчната плътност достигне 2-3 x 10^6 клетки/ml. Внимателно разрохкайте клетките, за да избегнете образуването на клъстери. След като клетъчната плътност достигне 1-2 x 10^6 клетки/ml, съберете клетките чрез центрофугиране при 200xg за 5 минути и изхвърлете супернатантата. Разредете в подходящ обем прясна, предварително затоплена културална среда и пребройте клетките, за да получите информация за жизнеспособността и броя на клетките. Съберете клетките чрез центрофугиране при 200xg за 5 минути и изхвърлете супернатантата. Ресуспендирайте клетките в подходящ обем замразяваща среда и пребройте отново. Жизнеспособността на клетките трябва да бъде >>80%, препоръчва се клетъчна плътност от 5-10 милиона клетки/ml. С помощта на пипета прехвърлете клетките в предварително етикетирани криовиали. Използвайте CoolCell контейнер за замразяване или фризер с контролирана скорост, за да осигурите скорост на охлаждане от 1°C/min.
Seeding density	5 x 10^5 клетки/ml
Post-Thaw Recovery	Започнете култивирането при плътност 5 x 10^5 клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките до 2-3 x 10^6 клетки/ml за оптимален растеж. Инкубирайте при 37°C/5% CO_2 в шейкър за клетки при 100-150 rpm.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Адаптирани към суспензия HEK293 | 300686

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.

7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Адаптирани към суспензия HEK293 | 300686

Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.