Product sheet

HEK293 adaptovaný na suspenzi | 300686

Obecné informace

Description	Buněčná linie HEK293 adaptovaná na suspenzi je variantou buněk lidské embryonální ledviny 293 (HEK293), která byla upravena tak, aby rostla v suspenzi namísto v adherentní kultuře. Tato úprava je důležitá pro průmyslové aplikace, kde je vyžadována rozsáhlá produkce proteinů. Buňky si zachovávají mnoho vlastností původní linie HEK293, včetně robustní účinnosti transientní transfekce a schopnosti posttranslačně modifikovat exprimované proteiny podobně jako nativní lidské buňky. Tyto buňky jsou ceněny zejména v biotechnologickém a farmaceutickém průmyslu pro výrobu rekombinantních proteinů a virů pro genovou terapii a vývoj vakcín. Přizpůsobení suspenzní kultuře umožňuje snadnější škálovatelnost a zjednodušuje proces sklizně, což je vhodnější pro komerční bioprocesy. Buněčná linie HEK293 adaptovaná na suspenzní kulturu podporuje různé systémy produkce virů, včetně adenoviru, lentiviru a adenoasociovaného viru (AAV), které jsou klíčové pro terapeutické aplikace a výzkum. Celkově je buněčná linie HEK293 adaptovaná na suspenzi klíčovým nástrojem v oblasti molekulární biologie a bioprocesingu, který poskytuje univerzální platformu pro produkci různých biologicky aktivních molekul. Její snadná genetická manipulace a schopnost produkovat proteiny, které jsou správně složené a posttranslačně modifikované podle vzorů lidských buněk, z ní činí nepostradatelný zdroj v mnoha pokročilých terapeutických a výzkumných prostředích.
Organism	Člověk
Tissue	Ledviny
Applications	Transfekční hostitel

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Ženy
Morphology	Kulaté
Growth properties	Zavěšení

Regulační údaje

Citation	HEK293 adaptovaná suspenze (katalogové číslo Cytion 300686)
Biosafety level	1

HEK293 adaptovaný na suspenzi | 300686

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie HEK293 přizpůsobená pro suspenzi obsahuje sekvence E1 odvozené od adenoviru 5 z rodičovské linie HEK293, které podporují vysokou proliferační schopnost a expresi proteinů. Modifikace je stabilně přítomna v transformovaných embryonálních ledvinových buňkách. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA negativní, p53 pozitivní
Tumorigenic	U nahých myší
Virus susceptibility	Transformované pomocí adenovirusové 5 DNA adenovirusové 5 DNA

Zpracování

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Německo)
Supplements	Nejsou nutné žádné doplňky
Dissociation Reagent	Není vyžadováno
Subculturing	Udržujte suspenzní buňky v hustotě mezi 5 x 10^5 a 2-3 x 10^6 buněk/ml v Eppendorfových lahvích na buněčné kultivaci na třepačce v inkubátoru při teplotě 37 °C/5 % CO_2. Jakmile hustota buněk dosáhne 2-3 x 10^6 buněk/ml, proveďte subkultivaci. Buňky opatrně uvolněte, aby nedošlo k jejich shlukování. Jakmile je dosaženo buněčné hustoty 1–2 x 10^6 buněk/ml, buňky se odeberou centrifugací při 200 x g po dobu 5 minut a supernatant se zlikviduje. Zřeďte v odpovídajícím objemu čerstvého, předehřátého kultivačního média a spočítejte buňky, abyste získali informace o životaschopnosti a počtu buněk. Buňky se shromáždí centrifugací při 200xg po dobu 5 minut a supernatant se zlikviduje. Buňky se resuspendují v odpovídajícím objemu mrazicího média a znovu se spočítají. Životaschopnost buněk by měla být >>80 %, doporučuje se hustota buněk 5–10 milionů buněk/ml. Pipetujte buňky do předem označených kryovialek. Použijte buď mrazicí nádobu CoolCell, nebo mrazák s řízenou rychlostí, aby byla zajištěna rychlost ochlazování 1 °C/min.

HEK293 adaptovaný na suspenzi | 300686

Seeding density	5 x 10^5 buněk/ml
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Kultury zahajte při hustotě 5 x 10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk na úrovni 2–3 x 10^6 buněk/ml. Inkubujte při teplotě 37 °C/5 % CO_2 na buněčném třepačce při 100–150 ot./min.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.
Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte. 7. Postupujte podle postupu popsaného v části Obnova po rozmrazení
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

HEK293 adaptovaný na suspenzi | 300686

Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 12,14 **D16S539**: 9 **D5S818**: 8,9 **D7S820**: 11,12 **TH01**: 7,9.3 **TPOX**: 11 **vWA**: 16,19 **D3S1358**: 15,17 **D21S11**: 28,30.2 **D18S51**: 18 **Penta E**: 7,15 **Penta D**: 9,10 **D8S1179**: 12,14 **FGA**: 23