Product sheet

HEK293 suspension-tilpasset | 300686

Generel information

Description	Den suspensionstilpassede HEK293-cellelinje er en variant af den humane embryonale nyre 293 (HEK293), som er blevet modificeret til at vokse i suspensionskultur i stedet for vedhæftende kultur. Denne tilpasning er vigtig for industrielle anvendelser, hvor der er behov for proteinproduktion i stor skala. Cellerne bevarer mange af egenskaberne ved den oprindelige HEK293-linje, herunder en robust transient transfektionseffektivitet og evnen til posttranslationelt at modificere udtrykte proteiner på en måde, der svarer til den i oprindelige humane celler. Disse celler er særligt værdsatte i den bioteknologiske og farmaceutiske industri til produktion af rekombinante proteiner og vira til genterapi og vaccineudvikling. Tilpasningen til suspensionskultur giver mulighed for lettere skalerbarhed og forenkler høstprocessen, hvilket gør den mere velegnet til bioprocesser i kommerciel skala. Den suspensionstilpassede HEK293-cellelinje understøtter forskellige virale produktionssystemer, herunder adenovirus, lentivirus og adenoassocieret virus (AAV), som er centrale i terapeutiske anvendelser og forskning. Samlet set er HEK293-cellelinjen et afgørende værktøj inden for molekylærbiologi og bioprocessing, der giver en alsidig platform til produktion af forskellige biologisk aktive molekyler. Dens lette genetiske manipulation og evne til at producere proteiner, der er korrekt foldet og posttranslationelt modificeret i henhold til menneskelige cellemønstre, gør den til en uundværlig ressource i mange avancerede terapeutiske og forskningsmæssige sammenhænge.
Organism	Menneske
Tissue	Nyre
Applications	Vært for transfektion

Karakteristika

Age	Foster
Gender	Kvinde
Morphology	Runde
Growth properties	Ophængning

Regulatoriske data

Citation	HEK293 suspension-adapted (Cytion katalognummer 300686)
Biosafety level	1

HEK293 suspension-tilpasset | 300686

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Denne suspensions tilpassede HEK293-cellelinje indeholder adenovirus 5-afledte E1-sekvenser fra den oprindelige HEK293-linje, hvilket understøtter høj proliferativ og proteinekspressionskapacitet. Modifikationen er stabilt til stede i transformerede embryonale nyreceller. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA-negativ, p53-positiv
Tumorigenic	I nøgne mus
Virus susceptibility	Transformeret med adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA

Håndtering

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Tyskland)
Supplements	Der kræves ingen kosttilskud
Dissociation Reagent	Ikke påkrævet
Subculturing	Opbevar suspensionscellerne ved en celletæthed mellem 5 x 10^5 og 2-3 x 10^6 celler/ml i Eppendorf-cellekulturflasker på en ryster i en inkubator ved 37 °C/5 % CO_2. Underkultiver, når celletætheden har nået 2-3 x 10^6 celler/ml. Fjern forsigtigt cellerne for at undgå klumper. Når celletætheden på 1-2 x 10^6 celler/ml er opnået, opsamles cellerne ved centrifugering ved 200xg i 5 minutter, og supernatanten kasseres. Fortynd i et passende volumen frisk, forvarmet dyrkningsmedium, og tæl cellerne for at få oplysninger om cellernes levedygtighed og antal. Opsaml cellerne ved centrifugering ved 200 x g i 5 minutter, og kassér supernatanten. Resuspender cellerne i en passende mængde frysemedium, og tæl dem igen. Cellernes levedygtighed bør være >>80 %, og en celletæthed på 5-10 millioner celler/ml anbefales. Pipetter cellerne over i forudmærkede kryorør. Brug enten en CoolCell-frysebeholder eller en fryser med kontrolleret hastighed for at sikre en afkølingshastighed på 1 °C/min.

HEK293 suspension-tilpasset | 300686

Seeding density	5 x 10^5 celler/ml
Post-Thaw Recovery	Start kulturerne med en tæthed på 5 x 10^5 celler/ml og hold cellekoncentrationen på 2-3 x 10^6 celler/ml for optimal vækst. Inkuber ved 37 °C/5 % CO_2 på en celleryster ved 100-150 omdrejninger pr. minut.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.