Product sheet

HEK293 suspensionsadaptiert | 300686

Allgemeine Informationen

Description	Die HEK293-Zelllinie, die an die Suspensionskultur angepasst ist, ist eine Variante der humanen embryonalen Nierenzellen 293 (HEK293), die so modifiziert wurde, dass sie in Suspensionskulturen und nicht in adhärenten Kulturen wächst. Diese Anpassung ist für industrielle Anwendungen von Bedeutung, bei denen eine Proteinproduktion in großem Maßstab erforderlich ist. Die Zellen behalten viele der Eigenschaften der ursprünglichen HEK293-Linie bei, einschließlich einer robusten transienten Transfektionseffizienz und der Fähigkeit, exprimierte Proteine in einer Weise posttranslational zu modifizieren, die derjenigen von nativen menschlichen Zellen ähnelt. Diese Zellen werden in der Biotechnologie- und Pharmaindustrie für die Produktion rekombinanter Proteine und Viren für die Gentherapie und die Entwicklung von Impfstoffen besonders geschätzt. Die Anpassung an die Suspensionskultur ermöglicht eine leichtere Skalierbarkeit und vereinfacht den Ernteprozess, wodurch sie sich besser für die Bioprozessierung im kommerziellen Maßstab eignet. Die an die Suspensionskultur angepasste HEK293-Zelllinie unterstützt verschiedene virale Produktionssysteme, darunter Adenovirus, Lentivirus und Adeno-assoziiertes Virus (AAV), die für therapeutische Anwendungen und Forschung von zentraler Bedeutung sind. Insgesamt ist die HEK293-Zelllinie in Suspensionsform ein wichtiges Instrument in den Bereichen Molekularbiologie und Bioprozessierung, das eine vielseitige Plattform für die Produktion verschiedener biologisch aktiver Moleküle bietet. Ihre einfache genetische Manipulation und ihre Fähigkeit, Proteine zu produzieren, die korrekt gefaltet und posttranslational nach menschlichen Zellmustern modifiziert sind, machen sie zu einer unverzichtbaren Ressource in vielen fortgeschrittenen therapeutischen und Forschungsbereichen.
Organism	Menschen
Tissue	Niere
Applications	Transfektionswirt

Merkmale

Age	Fötus
Gender	Weiblich
Morphology	Rund
Growth properties	Aufhängung

Regulatorische Daten

HEK293 suspensionsadaptiert | 300686

Citation	HEK293 Suspensions-adaptiert (Cytion Katalognummer 300686)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Diese für die Suspension angepasste HEK293-Zelllinie enthält aus Adenovirus 5 stammende E1-Sequenzen aus der parentalen HEK293-Linie, die eine hohe Proliferations- und Proteinexpressionskapazität unterstützen. Die Modifikation ist in transformierten embryonalen Nierenzellen stabil vorhanden. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA negativ, p53 positiv
Tumorigenic	In Nacktmäusen
Virus susceptibility	Transformiert mit Adenovirus 5 DNA Adenovirus 5 DNA

Handhabung

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Deutschland)
Supplements	Keine Zuschläge erforderlich
Dissociation Reagent	Nicht erforderlich

HEK293 suspensionsadaptiert | 300686

Subculturing	Halten Sie die Suspensionszellen bei einer Zelldichte zwischen 5 x 10^5 und 2-3 x 10^6 Zellen/ml in Eppendorf-Zellkulturflaschen auf einem Schüttler in einem Inkubator bei 37 °C/5 % CO_2. Führen Sie eine Subkultur durch, sobald die Zelldichte 2-3 x 10^6 Zellen/ml erreicht hat. Lösen Sie die Zellen vorsichtig, um Klumpenbildung zu vermeiden. Sobald eine Zelldichte von 1–2 × 10^6 Zellen/ml erreicht ist, die Zellen durch 5-minütiges Zentrifugieren bei 200 × g sammeln und den Überstand verwerfen. In einem geeigneten Volumen frischem, vorgewärmtem Kulturmedium verdünnen und die Zellen zählen, um Informationen über die Lebensfähigkeit und Anzahl der Zellen zu erhalten. Sammeln Sie die Zellen durch Zentrifugieren bei 200 x g für 5 Minuten und entsorgen Sie den Überstand. Resuspendieren Sie die Zellen in einer geeigneten Menge Gefriermedium und zählen Sie sie erneut. Die Lebensfähigkeit der Zellen sollte >>80 % betragen, eine Zelldichte von 5–10 Millionen Zellen/ml wird empfohlen. Pipettieren Sie die Zellen in vorbeschriftete Kryoröhrchen. Verwenden Sie entweder einen CoolCell-Gefrierbehälter oder einen Gefrierschrank mit kontrollierter Abkühlgeschwindigkeit, um eine Abkühlgeschwindigkeit von 1 °C/min sicherzustellen.
Seeding density	5 x 10^5 Zellen/ml
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Starten Sie die Kulturen mit einer Dichte von 5 x 10^5 Zellen/ml und halten Sie die Zellkonzentration für ein optimales Wachstum bei 2-3 x 10^6 Zellen/ml. Inkubieren Sie bei 37 °C/5 % CO_2 auf einem Zellschüttler bei 100-150 U/min.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir vollständiges Wachstumsmedium + 10 % DMSO, um eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten.

HEK293 suspensionsadaptiert | 300686

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Die Mischung 5 Minuten lang bei 200 x g zentrifugieren und den Überstand mit dem Gefriermedium vorsichtig verwerfen. 7. Befolgen Sie das unter Wiederherstellung nach dem Auftauen beschriebene Verfahren
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HEK293 suspensionsadaptiert | 300686

Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**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