Product sheet

HEK293 προσαρμοσμένο σε εναιώρημα | 300686

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HEK293 προσαρμοσμένη σε εναιώρημα είναι μια παραλλαγή των κυττάρων του ανθρώπινου εμβρυϊκού νεφρού 293 (HEK293) που έχει τροποποιηθεί ώστε να αναπτύσσεται σε καλλιέργεια εναιωρήματος αντί για προσκολλημένη καλλιέργεια. Η προσαρμογή αυτή είναι σημαντική για βιομηχανικές εφαρμογές όπου απαιτείται παραγωγή πρωτεϊνών μεγάλης κλίμακας. Τα κύτταρα διατηρούν πολλά από τα χαρακτηριστικά της αρχικής σειράς HEK293, συμπεριλαμβανομένης μιας ισχυρής απόδοσης παροδικής διαμόλυνσης και της ικανότητας μετα-μεταφραστικής τροποποίησης των εκφραζόμενων πρωτεϊνών με τρόπο παρόμοιο με αυτόν των εγγενών ανθρώπινων κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά εκτιμώνται ιδιαίτερα στη βιοτεχνολογία και τη φαρμακευτική βιομηχανία για την παραγωγή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών και ιών για τη γονιδιακή θεραπεία και την ανάπτυξη εμβολίων. Η προσαρμογή στην καλλιέργεια εναιωρήματος επιτρέπει ευκολότερη κλιμάκωση και απλοποιεί τη διαδικασία συγκομιδής, καθιστώντας την πιο κατάλληλη για βιοεπεξεργασία εμπορικής κλίμακας. Η προσαρμοσμένη σε εναιώρημα κυτταρική σειρά HEK293 υποστηρίζει διάφορα συστήματα παραγωγής ιών, συμπεριλαμβανομένων των αδενοϊών, των λεντιϊών και των αδενο-συνδεδεμένων ιών (AAV), τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για τις θεραπευτικές εφαρμογές και την έρευνα. Συνολικά, η προσαρμοσμένη σε εναιώρημα κυτταρική σειρά HEK293 αποτελεί ένα κρίσιμο εργαλείο στους τομείς της μοριακής βιολογίας και της βιοεπεξεργασίας, παρέχοντας μια ευέλικτη πλατφόρμα για την παραγωγή διαφόρων βιολογικά ενεργών μορίων. Η ευκολία γενετικού χειρισμού της και η ικανότητά της να παράγει πρωτεΐνες που είναι σωστά διπλωμένες και μετα-μεταφραστικά τροποποιημένες σύμφωνα με τα πρότυπα των ανθρώπινων κυττάρων την καθιστούν απαραίτητο πόρο σε πολλές προηγμένες θεραπευτικές και ερευνητικές ρυθμίσεις.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Applications	Ξενιστής διαμόλυνσης

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο
Gender	Γυναίκα
Morphology	Στρογγυλό
Growth properties	Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

HEK293 προσαρμοσμένο σε εναιώρημα | 300686

Citation	HEK293 προσαρμοσμένο σε εναιώρημα (αριθμός καταλόγου Cytion 300686)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά HEK293 προσαρμοσμένη σε εναιώρημα περιέχει αλληλουχίες E1 που προέρχονται από τον αδενοϊό 5 από τη γονική σειρά HEK293, υποστηρίζοντας υψηλή ικανότητα πολλαπλασιασμού και έκφρασης πρωτεϊνών. Η τροποποίηση είναι σταθερά παρούσα σε μετασχηματισμένα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και μπορεί να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Βιτρονεκτίνη
Protein expression	CEA αρνητικό, p53 θετικό
Tumorigenic	Σε γυμνά ποντίκια
Virus susceptibility	Μετασχηματισμένο με DNA αδενοϊού 5 DNA αδενοϊού 5

Χειρισμός

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Γερμανία)
Supplements	Δεν απαιτούνται συμπληρώματα
Dissociation Reagent	Δεν απαιτείται

HEK293 προσαρμοσμένο σε εναιώρημα | 300686

Subculturing	Διατηρήστε τα κύτταρα σε αιωρούμενη κατάσταση σε πυκνότητες μεταξύ 5 x 10^5 και 2-3 x 10^6 κύτταρα/ml σε φιάλες καλλιέργειας κυττάρων Eppendorf σε αναδευτήρα μέσα σε επωαστήρα στους 37°C/5% CO_2. Κάντε υποκαλλιέργεια μόλις η πυκνότητα των κυττάρων φτάσει τα 2-3 x 10^6 κύτταρα/ml. Αποσπάστε προσεκτικά τα κύτταρα για να αποφύγετε τη δημιουργία συσσωματωμάτων. Μόλις επιτευχθεί κυτταρική πυκνότητα 1-2 x 10^6 κύτταρα/ml, συλλέξτε τα κύτταρα με φυγοκέντρηση στα 200xg για 5 λεπτά και απορρίψτε τον υπερκείμενο. Αραιώστε σε κατάλληλο όγκο φρέσκου, προθερμασμένου μέσου καλλιέργειας και μετρήστε τα κύτταρα για να λάβετε πληροφορίες σχετικά με τη βιωσιμότητα και τον αριθμό των κυττάρων. Συλλέξτε τα κύτταρα με φυγοκέντρηση στα 200xg για 5 λεπτά και απορρίψτε τον υπερκείμενο. Ανασυστήστε τα κύτταρα σε κατάλληλο όγκο μέσου κατάψυξης και μετρήστε τα ξανά. Η βιωσιμότητα των κυττάρων πρέπει να είναι >>80%, συνιστάται πυκνότητα κυττάρων 5-10 εκατομμύρια κύτταρα/ml. Μεταφέρετε τα κύτταρα με πιπέτα σε προ-επισημασμένα κρυοφιαλίδια. Χρησιμοποιήστε είτε δοχείο κατάψυξης CoolCell είτε καταψύκτη ελεγχόμενης ταχύτητας για να εξασφαλίσετε ταχύτητα ψύξης 1°C/min.
Seeding density	5 x 10^5 κύτταρα/ml
Post-Thaw Recovery	Ξεκινήστε τις καλλιέργειες σε πυκνότητα 5 x 10^5 κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων σε 2-3 x 10^6 κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη. Επωάστε στους 37°C/5% CO_2 σε αναδευτήρα κυττάρων στα 100-150 rpm.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

HEK293 προσαρμοσμένο σε εναιώρημα | 300686

Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης. 7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

HEK293 προσαρμοσμένο σε εναιώρημα | 300686

Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.