Product sheet

Sospensione HEK293 adattata | 300686

Informazioni generali

Description	La linea cellulare HEK293 adattata alla sospensione è una variante delle cellule del rene embrionale umano 293 (HEK293) che è stata modificata per crescere in coltura in sospensione anziché in coltura aderente. Questo adattamento è importante per le applicazioni industriali che richiedono la produzione di proteine su larga scala. Le cellule mantengono molte delle caratteristiche della linea HEK293 originale, tra cui una robusta efficienza di trasfezione transitoria e la capacità di modificare post-traslazionalmente le proteine espresse in modo simile a quello delle cellule umane native. Queste cellule sono particolarmente apprezzate nell'industria biotecnologica e farmaceutica per la produzione di proteine ricombinanti e virus per la terapia genica e lo sviluppo di vaccini. L'adattamento alla coltura in sospensione consente una più facile scalabilità e semplifica il processo di raccolta, rendendolo più adatto ai bioprocessi su scala commerciale. La linea cellulare HEK293 adattata alla sospensione supporta diversi sistemi di produzione virale, tra cui adenovirus, lentivirus e virus adeno-associati (AAV), che sono fondamentali nelle applicazioni terapeutiche e nella ricerca. Nel complesso, la linea cellulare HEK293 suspension-adapted è uno strumento cruciale nei campi della biologia molecolare e del bioprocesso, in quanto fornisce una piattaforma versatile per la produzione di varie molecole biologicamente attive. La facilità di manipolazione genetica e la capacità di produrre proteine correttamente ripiegate e modificate post-traduzionalmente secondo i modelli delle cellule umane la rendono una risorsa indispensabile in molti contesti terapeutici e di ricerca avanzati.
Organism	Umano
Tissue	Rene
Applications	Ospite di trasfezione

Caratteristiche

Age	Feto
Gender	Donna
Morphology	Rotondo
Growth properties	Sospensione

Dati normativi

Citation	HEK293 in sospensione adattata (catalogo Cytion numero 300686)

Sospensione HEK293 adattata | 300686

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: questa linea cellulare HEK293 adattata alla sospensione contiene sequenze E1 derivate dall'adenovirus 5 dalla linea parentale HEK293, che supportano un'elevata capacità proliferativa ed espressione proteica. La modifica è presente in modo stabile nelle cellule renali embrionali trasformate. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Vitronectina
Protein expression	CEA negativo, p53 positivo
Tumorigenic	In topi nudi
Virus susceptibility	Trasformato con adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA

Manipolazione

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Germania)
Supplements	Non sono necessari integratori
Dissociation Reagent	Non richiesto

Sospensione HEK293 adattata | 300686

Subculturing	Mantenere le cellule in sospensione a densità comprese tra 5 x 10^5 e 2-3 x 10^6 cellule/ml in fiasche di coltura cellulare Eppendorf su un agitatore all'interno di un incubatore a 37 °C/5% di CO_2. Effettuare una sottocoltura una volta che la densità cellulare ha raggiunto 2-3 x 10^6 cellule/ml. Rimuovere con cura le cellule per evitare la formazione di aggregati. Una volta raggiunta una densità cellulare di 1-2 x 10^6 cellule/ml, raccogliere le cellule mediante centrifugazione a 200xg per 5 minuti e scartare il surnatante. Diluire in un volume appropriato di terreno di coltura fresco e preriscaldato e contare le cellule per ottenere informazioni sulla vitalità e sul numero di cellule. Raccogliere le cellule mediante centrifugazione a 200xg per 5 minuti e scartare il surnatante. Risospendere le cellule in un volume adeguato di terreno di congelamento e contarle nuovamente. La vitalità cellulare dovrebbe essere >>80%; si raccomanda una densità cellulare di 5-10 milioni di cellule/ml. Pipettare le cellule in crioviali pre-etichettati. Utilizzare un contenitore di congelamento CoolCell o un congelatore a velocità controllata per garantire una velocità di raffreddamento di 1 °C/min.
Seeding density	5 x 10^5 cellule/ml
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	Avviare le colture a una densità di 5 x 10^5 cellule/ml e mantenere la concentrazione cellulare fino a 2-3 x 10^6 cellule/ml per una crescita ottimale. Incubare a 37 °C/5% CO_2 su un agitatore cellulare a 100-150 rpm.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelamento.

Sospensione HEK293 adattata | 300686

Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento. 7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelamento
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Sospensione HEK293 adattata | 300686

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo 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