

Cytion293F-X šūnas | 305927

Vispārīga informācija

Description

Cytion293F-X ir cilvēka embrija nieru šūnu līnija, kas pielāgota audzēšanai suspensijā un ir līdzvērtīga HEK293F šūnām, kuras iegūtas no sākotnējās HEK293 šūnu līnijas. Šīs šūnas ir iegūtas no cilvēka embrija nieru audiem un ir pielāgotas augšanai bezseruma, ķīmiski definētos barotnēs suspensijas kultūras apstākļos. Šī pielāgošana ļauj šīm šūnām augt lielā blīvumā kratišanas kolbās vai bioreaktoros, padarot tās īpaši piemērotas proteīnu ekspresijai lielā mērogā. Tāpat kā citi HEK293 atvasinājumi, 293F-X šūnas saglabā adenovīrusa E1A/E1B genomisko integrāciju, kas nodrošina stabilu transģēna ekspresiju.

Cytion293F-X šūnas ir optimizētas pārejošas transfekcijas darba plūsmām, jo īpaši rekombinantās proteīnu, monoklonālo antivielu un vīrusu vektoru ražošanai. Tām piemīt augsta transfekcijas efektivitāte, izmantojot ķīmiskas metodes, piemēram, polietilēniminu (PEI) vai uz lipīdiem balstītus reaģentus, un tās spēj īsā laikā saražot ievērojamu proteīnu daudzumu. To augšana suspensijā un mērogojamība ļauj efektīvi palielināt ražošanas apjomu no nelieliem laboratorijas apjomiem līdz rūpnieciskām biopārstrādes sistēmām, vienlaikus saglabājot nemainīgu ekspresijas veiktspēju.

Papildus proteīnu ražošanai Cytion293F-X šūnas plaši izmanto viroloģijas un gēnu piegādes pētījumos, tostarp adenoasociētā vīrusa (AAV) un lentivīrusu daļiņu radišanā. Tās saglabā HEK293 atvasināto sistēmu galvenās īpašības, tostarp cilvēkam līdzīgu pēctranslācijas modifikāciju mehānismu, kas ir būtisks pareizai proteīnu salocīšanai un glikozilācijai. Tomēr, tāpat kā citiem HEK293 variantiem, genomiskā heterogenitāte un klonālā variācija var ietekmēt ekspresijas rezultātus, un konkrētām lietojumprogrammām bieži ir nepieciešama kultūras un transfekcijas parametru optimizācija.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Applications Transfekcijas saimnieks

Raksturojums

Age Auglis

Gender Sievietes

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Apturēšana

Normatīvie dati

Citation Cytion293F-X (Cytion kataloga numurs 305927)

Cytion293F-X šūnas | 305927

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**GMO Status** GMO-S1: Šī Cytion293F-X šūnu līnija satur SV40, kas nodrošina augstu transfekcijas efektivitāti un stabilu augšanu suspensijas kultūrā. Šī modifikācija ir stabili klātesoša embrionālajās nieru šūnās. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Receptors expressed** Vitronektīns**Protein expression** CEA negatīvs, p53 pozitīvs**Tumorigenic** Plikām pelēm**Viruses** Transformēta ar adenovīrusa 5 DNS adenovīrusa 5 DNS**Darbs ar****Culture Medium** Expi293 ekspresijas barotne**Dissociation Reagent** Neviens**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 0,3 līdz 1×10^6 šūnu/ml**Fluid renewal** 2 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Cytion293F-X šūnas | 305927**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA