Product sheet

HEK293 suspensjonstilpasset | 300686

Generell informasjon

Description	Den suspensjonstilpassede cellelinjen HEK293 er en variant av de humane embryonale nyrecellene 293 (HEK293) som er modifisert til å vokse i suspensjonskultur i stedet for i adherent kultur. Denne tilpasningen er viktig for industrielle anvendelser der det er behov for proteinproduksjon i stor skala. Cellene har beholdt mange av egenskapene til den opprinnelige HEK293-linjen, blant annet en robust transient transfeksjonseffektivitet og evnen til å posttranslasjonelt modifisere uttrykte proteiner på en måte som ligner den man finner i opprinnelige humane celler. Disse cellene er spesielt verdsatt i bioteknologi- og farmasøytisk industri for produksjon av rekombinante proteiner og virus til genterapi og vaksineutvikling. Tilpasningen til suspensjonskultur gjør det lettere å skalere og forenkler høstingsprosessen, noe som gjør den mer egnet for bioprosessering i kommersiell skala. Den suspensjonstilpassede cellelinjen HEK293 støtter ulike virale produksjonssystemer, inkludert adenovirus, lentivirus og adenoassosiert virus (AAV), som er sentrale i terapeutiske anvendelser og forskning. HEK293-suspensjonscellelinjen er et viktig verktøy innen molekylærbiologi og bioprosessering, og den utgjør en allsidig plattform for produksjon av ulike biologisk aktive molekyler. Den enkle genetiske manipuleringen og evnen til å produsere proteiner som er korrekt foldet og posttranslasjonelt modifisert i henhold til humane cellemønstre, gjør den til en uunnværlig ressurs i mange avanserte behandlings- og forskningsmiljøer.
Organism	Menneskelig
Tissue	Nyre
Applications	Vert for transfeksjon

Kjennetegn

Age	Foster
Gender	Kvinne
Morphology	Rund
Growth properties	Oppheng

Regulatoriske data

Citation	HEK293 suspensjonstilpasset (Cytion katalognummer 300686)
Biosafety level	1

HEK293 suspensjonstilpasset | 300686

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Denne suspensjonstilpassede HEK293-cellelinjen inneholder adenovirus 5-avledede E1-sekvenser fra den opprinnelige HEK293-linjen, som støtter høy proliferativ og proteinekspresjonskapasitet. Modifikasjonen er stabilt til stede i transformerte embryonale nyreceller. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Tyskland)
Supplements	Ingen kosttilskudd nødvendig
Dissociation Reagent	Ikke nødvendig
Subculturing	Oppretthold suspensjonscellene ved en celletetthet mellom 5 x 10^5 og 2-3 x 10^6 celler/ml i Eppendorf-cellekulturflasker på en rister i en inkubator ved 37 °C/5 % CO_2. Subkultur når celletettheten har nådd 2-3 x 10^6 celler/ml. Fjern cellene forsiktig for å unngå klumper. Når celletettheten på 1-2 x 10^6 celler/ml er oppnådd, samle cellene ved å sentrifugere ved 200xg i 5 minutter og kast supernatanten. Fortynn i et passende volum ferskt, forvarmet dyrkningsmedium og tell cellene for å få informasjon om levedyktigheten og antall celler. Samle cellene ved å sentrifugere ved 200 x g i 5 minutter og kast supernatanten. Resuspender cellene i et passende volum frysemedium og tell dem igjen. Cellelevbarheten bør være >>80 %, og en celletetthet på 5–10 millioner celler/ml anbefales. Pipetter cellene inn i forhåndsmerkede kryorør. Bruk enten CoolCell-frysebeholder eller en fryser med kontrollert hastighet for å sikre en avkjølingshastighet på 1 °C/min.

HEK293 suspensjonstilpasset | 300686

Seeding density	5 x 10^5 celler/ml
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Start kulturer med en tetthet på 5 x 10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen oppe på 2-3 x 10^6 celler/ml for optimal vekst. Inkuber ved 37 °C/5 % CO_2 på en celle-shaker ved 100-150 rpm.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter opptining.
Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig. 7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HEK293 suspensjonstilpasset | 300686

Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
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