Product sheet

HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa HEK293 przystosowana do hodowli w zawiesinie jest wariantem komórek ludzkiej embrionalnej nerki 293 (HEK293), które zostały zmodyfikowane tak, aby rosły w hodowli w zawiesinie, a nie w hodowli adherentnej. Adaptacja ta jest istotna dla zastosowań przemysłowych, w których wymagana jest produkcja białek na dużą skalę. Komórki zachowują wiele cech oryginalnej linii HEK293, w tym wysoką wydajność przejściowej transfekcji i zdolność do potranslacyjnej modyfikacji wyrażonych białek w sposób podobny do natywnych komórek ludzkich. Komórki te są szczególnie cenione w przemyśle biotechnologicznym i farmaceutycznym do produkcji rekombinowanych białek i wirusów do terapii genowej i rozwoju szczepionek. Adaptacja do hodowli zawiesinowej pozwala na łatwiejszą skalowalność i upraszcza proces zbioru, dzięki czemu jest bardziej odpowiednia do bioprzetwarzania na skalę komercyjną. Linia komórkowa HEK293 przystosowana do hodowli w zawiesinie obsługuje różne systemy produkcji wirusów, w tym adenowirusy, lentiwirusy i adenowirusy (AAV), które mają kluczowe znaczenie w zastosowaniach terapeutycznych i badaniach. Ogólnie rzecz biorąc, linia komórkowa HEK293 jest kluczowym narzędziem w dziedzinie biologii molekularnej i bioprzetwarzania, zapewniając wszechstronną platformę do produkcji różnych biologicznie aktywnych cząsteczek. Łatwość manipulacji genetycznej i zdolność do produkcji białek, które są prawidłowo składane i modyfikowane potranslacyjnie zgodnie z wzorcami ludzkich komórek, czynią ją niezbędnym zasobem w wielu zaawansowanych środowiskach terapeutycznych i badawczych.
Organism	Człowiek
Tissue	Nerka
Applications	Host transfekcji

Charakterystyka

Age	Płód
Gender	Kobieta
Morphology	Okrągły
Growth properties	Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation	HEK293 dostosowany do zawiesiny (numer katalogowy Cytion 300686)

HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórek HEK293 przystosowana do zawiesiny zawiera sekwencje E1 pochodzące z adenowirusa 5 z macierzystej linii HEK293, co zapewnia wysoką zdolność proliferacyjną i ekspresję białek. Modyfikacja jest stabilnie obecna w transformowanych komórkach nerkowych embrionów. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Witronektyna
Protein expression	CEA ujemny, p53 dodatni
Tumorigenic	U nagich myszy
Virus susceptibility	Transformowany adenowirusem 5 DNA adenowirus 5 DNA

Obsługa

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Niemcy)
Supplements	Nie są wymagane żadne suplementy
Dissociation Reagent	Niewymagane

HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686

Subculturing	Utrzymuj komórki w zawiesinie w gęstości od 5 x 10^5 do 2-3 x 10^6 komórek/ml w kolbach do hodowli komórek Eppendorf na wytrząsarce w inkubatorze w temperaturze 37°C/5% CO_2. Po osiągnięciu gęstości komórek wynoszącej 2-3 x 10^6 komórek/ml należy wykonać subkulturę. Ostrożnie usuwaj komórki, aby uniknąć tworzenia się skupisk. Po osiągnięciu gęstości komórek wynoszącej 1-2 x 10^6 komórek/ml, zebrać komórki przez odwirowanie przy 200xg przez 5 minut i odrzucić supernatant. Rozcieńczyć w odpowiedniej objętości świeżego, podgrzanego podłoża hodowlanego i policzyć komórki, aby uzyskać informacje na temat żywotności i liczby komórek. Zbierz komórki przez odwirowanie przy 200xg przez 5 minut i odrzuć supernatant. Ponownie zawiesić komórki w odpowiedniej objętości pożywki do zamrażania i ponownie policzyć. Żywotność komórek powinna wynosić >>80%, zalecana gęstość komórek to 5–10 milionów komórek/ml. Przenieść komórki pipetą do wstępnie oznaczonych probówek kriogenicznych. Użyć pojemnika do zamrażania CoolCell lub zamrażarki o kontrolowanej prędkości, aby zapewnić prędkość chłodzenia wynoszącą 1°C/min.
Seeding density	5 x 10^5 komórek/ml
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Rozpocznij hodowlę przy gęstości 5 x 10^5 komórek/ml i utrzymuj stężenie komórek na poziomie 2-3 x 10^6 komórek/ml, aby uzyskać optymalny wzrost. Inkubuj w temperaturze 37°C/5% CO_2 na wytrząsarce komórkowej przy 100-150 obr./min.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686

Thawing and Culturing Cells	1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu. 2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla. 3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu. 4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem. 5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając. 6. Wirować mieszaninę z prędkością 200 x g przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania. 7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686

Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.
Profil 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