Product sheet

Suspensie HEK293 adaptată | 300686

Informații generale

Description	Linia celulară HEK293 adaptată la suspensie este o variantă a celulelor HEK293 (Human Embryonic kidney 293) care a fost modificată pentru a creşte în cultură în suspensie mai degrabă decât în cultură aderentă. Această adaptare este semnificativă pentru aplicaţiile industriale în care este necesară producţia de proteine pe scară largă. Celulele păstrează multe dintre caracteristicile liniei HEK293 originale, inclusiv o eficienţă robustă a transfecţiei tranzitorii şi capacitatea de a modifica posttraducţional proteinele exprimate într-un mod similar cu cel al celulelor umane native. Aceste celule sunt deosebit de apreciate în industriile biotehnologică şi farmaceutică pentru producerea de proteine recombinante şi viruşi pentru terapia genică şi dezvoltarea vaccinurilor. Adaptarea la cultura în suspensie permite o scalabilitate mai uşoară şi simplifică procesul de recoltare, făcându-l mai potrivit pentru bioprocesarea la scară comercială. Linia celulară HEK293 adaptată la suspensie suportă diverse sisteme de producţie virală, inclusiv adenovirus, lentivirus şi virus adeno-asociat (AAV), care sunt esenţiale în aplicaţiile terapeutice şi în cercetare. În general, linia celulară HEK293 adaptată la suspensie este un instrument esenţial în domeniul biologiei moleculare şi al bioprocesării, oferind o platformă versatilă pentru producerea diferitelor molecule biologic active. Uşurinţa manipulării genetice şi capacitatea sa de a produce proteine care sunt pliate corect şi modificate posttraducţional în conformitate cu modelele celulelor umane o transformă într-o resursă indispensabilă în multe contexte terapeutice şi de cercetare avansate.
Organism	Om
Tissue	Rinichi
Applications	Gazdă de transfecţie

Caracteristici

Age	Fetusul
Gender	Femei
Morphology	Rotund
Growth properties	Suspensie

Date de reglementare

Citation	Suspensie HEK293 adaptată (număr de catalog Cytion 300686)

Suspensie HEK293 adaptată | 300686

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Această linie celulară HEK293 adaptată la suspensie conține secvențe E1 derivate din adenovirusul 5 din linia parentală HEK293, susținând o capacitate ridicată de proliferare și expresie proteică. Modificarea este prezentă în mod stabil în celulele renale embrionare transformate. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Receptors expressed	Vitronectină
Protein expression	CEA negativ, p53 pozitiv
Tumorigenic	La șoarecii nude
Virus susceptibility	Transformat cu adenovirus 5 ADN adenovirus 5 ADN

Manipulare

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Germania)
Supplements	Nu sunt necesare suplimente
Dissociation Reagent	Nu este necesar

Suspensie HEK293 adaptată | 300686

Subculturing	Mențineți celulele în suspensie la densități celulare cuprinse între 5 x 10^5 și 2-3 x 10^6 celule/ml în flacoane de cultură celulară Eppendorf pe un agitator în interiorul unui incubator la 37 °C/5 % CO_2. Realizați o subcultură odată ce densitatea celulară a atins 2-3 x 10^6 celule/ml. Desprindeți cu atenție celulele pentru a evita formarea de aglomerări. Odată ce densitatea celulară de 1-2 x 10^6 celule/ml este atinsă, colectați celulele prin centrifugare la 200xg timp de 5 minute și aruncați supernatantul. Diluați într-un volum adecvat de mediu de cultură proaspăt, preîncălzit și numărați celulele pentru a obține informații despre viabilitatea și numărul celulelor. Colectați celulele prin centrifugare la 200xg timp de 5 minute și aruncați supernatantul. Resuspendeți celulele într-un volum adecvat de mediu de congelare și numărați-le din nou. Viabilitatea celulară trebuie să fie >>80%, se recomandă o densitate celulară de 5-10 milioane de celule/ml. Pipetați celulele în crioviale preetichetate. Utilizați fie un recipient de congelare CoolCell, fie un congelator cu viteză controlată pentru a asigura o viteză de răcire de 1 °C/min.
Seeding density	5 x 10^5 celule/ml
Post-Thaw Recovery	Inițiați culturile la o densitate de 5 x 10^5 celule/ml și mențineți concentrația celulară la 2-3 x 10^6 celule/ml pentru o creștere optimă. Incubați la 37 °C/5 % CO_2 pe un agitator celular la 100-150 rpm.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 200 x g timp de 5 minute, se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare.
7. Se urmează procedura descrisă la secțiunea Recuperare după decongelare

Suspensie HEK293 adaptată | 300686

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.