

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 crește în cultură în suspensie mai degrabă decât în cultură aderentă. Această adaptare este semnificativă pentru aplicațiile industriale în care este necesară producția de proteine pe scară largă. Celulele păstrează multe dintre caracteristicile liniei HEK293 originale, inclusiv o eficiență robustă a transfecției tranzitorii și capacitatea de a modifica posttraducțional proteinele exprimate într-un mod similar cu cel al celulelor umane native.

Aceste celule sunt deosebit de apreciate în industriile biotehnologică și farmaceutică pentru producerea de proteine recombinante și viruși pentru terapia genică și dezvoltarea vaccinurilor. Adaptarea la cultura în suspensie permite o scalabilitate mai ușoară și simplifică procesul de recoltare, făcându-l mai potrivit pentru bioprosesarea la scară comercială. Linia celulară HEK293 adaptată la suspensie suportă diverse sisteme de producție virală, inclusiv adenovirus, lentivirus și virus adeno-asociat (AAV), care sunt esențiale în aplicațiile terapeutice și în cercetare.

În general, linia celulară HEK293 adaptată la suspensie este un instrument esențial în domeniul biologiei moleculare și al bioprosesării, oferind o platformă versatilă pentru producerea diferitelor molecule biologice active. Ușurința manipulării genetice și capacitatea sa de a produce proteine care sunt pliate corect și modificate posttraducțional în conformitate cu modelele celulelor umane o transformă într-o resursă indispensabilă în multe contexte terapeutice și de cercetare avansate.

Organism

Om

Tissue

Rinichi

Applications

Gazdă de transfecție

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 5×10^5 și $2-3 \times 10^6$ celule/ml în flacoane de cultură celulară Eppendorf pe un agitator în interiorul unui incubator la $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Realizați o subcultură odată ce densitatea celulară a atins $2-3 \times 10^6$ celule/ml. Desprindeți cu atenție celulele pentru a evita formarea de aglomerări. Odată ce densitatea celulară de $1-2 \times 10^6$ 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 $1^\circ\text{C}/\text{min}$.

Seeding density

5×10^5 celule/ml

Post-Thaw Recovery

Inițiați culturile la o densitate de 5×10^5 celule/ml și mențineți concentrația celulară la $2-3 \times 10^6$ celule/ml pentru o creștere optimă. Incubați la $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ 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 dezghețare.

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 $200 \times g$ 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% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu collagen**.

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 / Profil genetic / HLA

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.