

HEK293 süspansiyona uyarlanmış | 300686

Genel bilgi

Description

HEK293 süspansiyona uyarlanmış hücre hattı, insan embriyonik böbrek 293 (HEK293) hücrelerinin yapışık kültür yerine süspansiyon kültüründe büyümek üzere modifiye edilmiş bir çeşiddir. Bu adaptasyon, büyük ölçekli protein üretiminin gerekli olduğu endüstriyel uygulamalar için önemlidir. Hücreler, sağlam bir geçici transfeksiyon verimliliği ve ifade edilen proteinleri doğal insan hücrelerine benzer bir şekilde post-translasyonel olarak değiştirme yeteneği de dahil olmak üzere orijinal HEK293 hattının birçok özelliğini korumaktadır.

Bu hücreler özellikle biyoteknoloji ve ilaç endüstrilerinde gen terapisi ve aşı geliştirmeye yönelik rekombinant proteinlerin ve virüslerin üretimi için değerlidir. Süspansiyon kültürüne adaptasyon daha kolay ölçeklenebilirlik sağlar ve hasat sürecini basitleştirerek ticari ölçekli biyoişleme için daha uygun hale getirir. HEK293 süspansiyona uyarlanmış hücre hattı, terapötik uygulamalar ve araştırmalarda çok önemli olan adenovirüs, lentivirüs ve adeno-ilişkili virüs (AAV) dahil olmak üzere çeşitli viral üretim sistemlerini destekler.

Genel olarak, HEK293 süspansiyona uyarlanmış hücre hattı, moleküler biyoloji ve biyoproses alanlarında çok önemli bir araçtır ve çeşitli biyolojik olarak aktif moleküllerin üretimi için çok yönlü bir platform sağlar. Genetik manipülasyon kolaylığı ve insan hücre modellerine göre doğru katlanmış ve post-translasyonel olarak modifiye edilmiş proteinler üretme yeteneği, onu birçok gelişmiş terapötik ve araştırma ortamında vazgeçilmez bir kaynak haline getirmektedir.

Organism İnsan

Tissue Böbrek

Applications Transfeksiyon konağı

Özellikler

Age Fetüs

Gender Kadın

Morphology Yuvarlak

Growth properties Süspansiyon

Düzenleyici Veriler

Citation HEK293 süspansiyona uyarlanmış (Cytion katalog numarası 300686)

Biosafety level 1

HEK293 süspansiyona uyarlanmış | 300686

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0045

GMO Status GMO-S1: Bu süspansiyona adapte edilmiş HEK293 hücre hattı, ebeveyn HEK293 hattından adenovirüs 5 kaynaklı E1 sekansları içerir ve yüksek proliferatif ve protein ekspresyon kapasitesini destekler. Modifikasyon, dönüştürülmüş embriyonik böbrek hücrelerinde stabil bir şekilde mevcuttur. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Receptors expressed Vitronektin**Protein expression** CEA negatif, p53 pozitif**Tumorigenic** Çıplak farelerde**Virus susceptibility** Adenovirüs 5 DNA'sı ile dönüştürülmüş adenovirüs 5 DNA'sı

Elleçleme

Culture Medium Panserin 293S (PanBiotech, Almanya)**Supplements** Takviye gerekmez**Dissociation Reagent** Gerekli değil

Subculturing Süspansiyon hücrelerini, 37°C/5% CO₂ 'lik bir inkübatör içindeki çalkalayıcıda, Eppendorf hücre kültürü şişelerinde 5 x 10⁵ ile 2-3 x 10⁶ hücre/ml arasında hücre yoğunluklarında muhafaza edin. Hücre yoğunluğu 2-3 x 10⁶ hücre/ml'ye ulaştığında alt kültüre alın. Hücrelerin kümelenmesini önlemek için dikkatlice ayırın. Hücre yoğunluğu 1-2 x 10⁶ hücre/ml'ye ulaştığında, hücreleri 200xg'de 5 dakika santrifüjleyerek toplayın ve süpernatantı atın. Uygun hacimde taze, önceden ısıtılmış kültür ortamı ile seyreltin ve hücrelerin canlılığı ve sayısı hakkında bilgi edinmek için hücreleri sayın. Hücreleri 200xg'de 5 dakika santrifüjleyerek toplayın ve süpernatantı atın. Hücreleri uygun hacimde dondurma ortamında yeniden süspansiyon haline getirin ve bir kez daha sayın. Hücre canlılığı >>%80 olmalıdır, 5-10 milyon hücre/ml hücre yoğunluğu önerilir. Hücreleri önceden etiketlenmiş kriyoviyallere pipetleyin. 1°C/dk soğutma hızını sağlamak için CoolCell dondurma kabı veya kontrollü hızda dondurucu kullanın.

HEK293 süspansiyona uyarlanmış | 300686

Seeding density5 x 10⁵ hücre/ml**Post-Thaw Recovery**

Kültürleri 5 x 10⁵ hücre/ml yoğunlukta başlatın ve optimum büyüme için hücre konsantrasyonunu 2-3 x 10⁶ hücre/ml seviyesinde tutun. 37°C/5% CO₂ 'de 100-150 rpm hızında bir hücre çalkalayıcıda inkübe edin.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir ajan içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin

Incubation Atmosphere37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.**Flask Coating**

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HEK293 süspansiyona uyarlanmış | 300686

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.