

HEK293, адаптований до підвісу | 300686

Загальна інформація

Description

Адапована до суспензії клітинна лінія HEK293 - це варіант клітин людської ембріональної нирки 293 (HEK293), модифікований для росту в суспензійній культурі, а не в адгезивній культурі. Ця адаптація має важливе значення для промислового застосування, де потрібне великомасштабне виробництво білка. Клітини зберігають багато характеристик оригінальної лінії HEK293, включаючи високу ефективність трансфекції та здатність до посттрансляційної модифікації експресованих білків, подібно до нативних клітин людини.

Ці клітини особливо цінуються в біотехнологічній та фармацевтичній промисловості для виробництва рекомбінантних білків і вірусів для генної терапії та розробки вакцин. Адаптація до суспензійної культури дозволяє легше масштабувати і спрощує процес збору, роблячи його більш придатним для біообробки в комерційних масштабах. Адапована до суспензій клітинна лінія HEK293 підтримує різні системи виробництва вірусів, включаючи аденовірус, лентівірус та адено-асоційований вірус (AAV), які є ключовими для терапевтичних застосувань та досліджень.

Загалом, адаптована до суспензій клітинна лінія HEK293 є важливим інструментом у галузі молекулярної біології та біопроектингу, забезпечуючи універсальну платформу для виробництва різних біологічно активних молекул. Простота генетичних маніпуляцій і здатність продукувати білки, які правильно складаються і посттрансляційно модифікуються відповідно до клітинних патернів людини, роблять її незамінним ресурсом у багатьох передових терапевтичних і дослідницьких середовищах.

Organism Людина

Tissue Нирка

Applications Хазяїн для трансфекції

Характеристики

Age Плід

Gender Жінка

Morphology Круглий

Growth properties Підвіска

Нормативні дані

Citation HEK293, адаптований для підвішування (номер за каталогом Cytion 300686)

HEK293, адаптований до підвісу | 300686**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0045**GMO Status** GMO-S1: Ця лінія клітин HEK293, адаптована до суспензії, містить послідовності E1, похідні від аденовірусу 5, з батьківської лінії HEK293, що забезпечує високу проліферативну здатність та здатність до експресії білків. Модифікація стабільно присутня в трансформованих ембріональних клітинах нирок. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.**Біомолекулярні дані****Receptors expressed** Вітронектин**Protein expression** СЕА негативний, р53 позитивний**Tumorigenic** У голих мишей**Virus susceptibility** Трансформовані аденовірусом 5 ДНК аденовірусом 5 ДНК**Обробка****Culture Medium** Panserin 293S (PanBiotech, Німеччина)**Supplements** Додатки не потрібні**Dissociation Reagent** Не обов'язково

HEK293, адаптований до підвісу | 300686

Subculturing Підтримуйте клітини в суспензії при щільності від 5×10^5 до $2-3 \times 10^6$ клітин/мл у колбах для культивування клітин Eppendorf на шейкері в інкубаторі при температурі $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Проведіть субкультуру, коли щільність клітин досягне $2-3 \times 10^6$ клітин/мл. Обережно відокремте клітини, щоб уникнути утворення скупчень. Після досягнення щільності клітин $1-2 \times 10^6$ клітин/мл, збирайте клітини шляхом центрифугування при 200g протягом 5 хвилин і викидайте супернатант. Розведіть у відповідному об'ємі свіжого, попередньо підігрітого культурального середовища і підрахуйте клітини, щоб отримати інформацію про життєздатність і кількість клітин. Зберіть клітини шляхом центрифугування при 200g протягом 5 хвилин і викиньте супернатант. Ресуспендуйте клітини у відповідному об'ємі заморожувального середовища і підрахуйте ще раз. Життєздатність клітин повинна бути $>>80\%$, рекомендується щільність клітин 5-10 мільйонів клітин/мл. Перенесіть клітини піпеткою в попередньо марковані кріопробірки. Використовуйте контейнер для заморожування CoolCell або морозильник з контрольованою швидкістю охолодження, щоб забезпечити швидкість охолодження $1^\circ\text{C}/\text{хв}$.

Seeding density 5×10^5 клітин/мл

Post-Thaw Recovery Започніть культивування при щільності 5×10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин на рівні $2-3 \times 10^6$ клітин/мл для оптимального росту. Інкубуйте при $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ на клітинному шейкері при 100-150 об/хв.

Freeze medium В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

HEK293, адаптований до підвісу | 300686

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Центрифугуйте суміш при $200 \times g$ протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище.
7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

HEK293, адаптований до підвісу | 300686

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °С. Зберігання при -80 °С допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.