

HEK293 thích nghi với môi trường nuôi cấy lơ lửng | 300686

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào HEK293 thích nghi với nuôi cấy treo là một biến thể của dòng tế bào thận phôi người 293 (HEK293) đã được sửa đổi để phát triển trong môi trường nuôi cấy treo thay vì nuôi cấy bám dính. Sự thích nghi này có ý nghĩa quan trọng trong các ứng dụng công nghiệp yêu cầu sản xuất protein quy mô lớn. Các tế bào này duy trì nhiều đặc tính của dòng tế bào HEK293 gốc, bao gồm hiệu suất chuyển gen tạm thời mạnh mẽ và khả năng sửa đổi sau dịch mã các protein được biểu hiện theo cách tương tự như tế bào người bản địa.

Các tế bào này được đánh giá cao trong ngành công nghệ sinh học và được phẩm cho sản xuất protein tái tổ hợp và virus dùng trong liệu pháp gen và phát triển vắc-xin. Sự thích nghi với môi trường nuôi cấy treo giúp dễ dàng mở rộng quy mô và đơn giản hóa quá trình thu hoạch, làm cho nó phù hợp hơn cho quy trình sinh học quy mô thương mại. Dòng tế bào HEK293 thích nghi với nuôi cấy treo hỗ trợ các hệ thống sản xuất virus khác nhau, bao gồm adenovirus, lentivirus và virus liên quan đến adenovirus (AAV), đóng vai trò quan trọng trong các ứng dụng điều trị và nghiên cứu.

Tổng thể, dòng tế bào HEK293 thích nghi với nuôi cấy treo là công cụ quan trọng trong lĩnh vực sinh học phân tử và công nghệ sinh học, cung cấp nền tảng linh hoạt cho sản xuất các phân tử sinh học hoạt tính. Khả năng thao tác di truyền dễ dàng và khả năng sản xuất protein được gấp nếp chính xác và sửa đổi sau dịch mã theo mô hình tế bào người khiến nó trở thành nguồn tài nguyên không thể thiếu trong nhiều môi trường điều trị và nghiên cứu tiên tiến.

Organism Con người

Tissue Thận

Applications Vật chủ cho quá trình chuyển gen

Đặc điểm

Age Thai nhi

Gender Nữ

Morphology Vòng

Growth properties Hệ thống treo

Dữ liệu quy định

Citation HEK293 thích nghi với môi trường nuôi cấy lơ lửng (Số catalog Cytion 300686)

Biosafety level 1

HEK293 thích nghi với môi trường nuôi cấy lơ lửng | 300686

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0045

GMO Status GMO-S1: Dòng tế bào HEK293 thích nghi với môi trường treo này chứa các trình tự E1 được dẫn xuất từ adenovirus 5 của dòng tế bào HEK293 gốc, hỗ trợ khả năng tăng sinh cao và biểu hiện protein mạnh mẽ. Sự biến đổi này được duy trì ổn định trong các tế bào thận phôi đã được biến đổi. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Receptors expressed Vitronectin

Protein expression CEA âm tính, p53 dương tính

Tumorigenic Ở chuột không lông

Virus susceptibility Được biến đổi bằng DNA của adenovirus 5 DNA của adenovirus 5

Xử lý

Culture Medium Panserin 293S (PanBiotech, Đức)

Supplements Không cần bổ sung thêm

Dissociation Reagent Không bắt buộc

Subculturing Giữ các tế bào treo lơ lửng ở mật độ tế bào từ 5×10^5 đến $2-3 \times 10^6$ tế bào/ml trong các bình nuôi cấy tế bào Eppendorf trên máy lắc bên trong tủ ấm ở $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Thực hiện phân chia tế bào khi mật độ tế bào đạt $2-3 \times 10^6$ tế bào/ml. Cần thận tách các tế bào để tránh tạo thành cụm. Khi mật độ tế bào đạt $1-2 \times 10^6$ tế bào/ml, thu thập tế bào bằng cách ly tâm ở 200xg trong 5 phút và loại bỏ dịch trên. Pha loãng trong thể tích thích hợp của môi trường nuôi cấy tươi, đã được làm ấm trước và đếm tế bào để xác định độ sống và số lượng tế bào. Thu thập tế bào bằng cách ly tâm ở 200xg trong 5 phút và loại bỏ dịch trên. Hòa tan lại tế bào trong thể tích thích hợp của môi trường đông lạnh và đếm lại. Độ sống sót của tế bào nên $>80\%$, mật độ tế bào khuyến nghị là 5-10 triệu tế bào/ml. Hút tế bào vào ống đông lạnh đã được dán nhãn sẵn. Sử dụng hộp đông lạnh CoolCell hoặc tủ đông có tốc độ làm lạnh kiểm soát để đảm bảo tốc độ làm lạnh là $1^\circ\text{C}/\text{phút}$.

Seeding density 5×10^5 tế bào/ml

HEK293 thích nghi với môi trường nuôi cấy lơ lửng | 300686

Post-Thaw Recovery

Bắt đầu nuôi cấy tế bào với mật độ 5×10^5 tế bào/ml và duy trì nồng độ tế bào ở mức $2-3 \times 10^6$ tế bào/ml để đạt được sự phát triển tối ưu. Ủ ở $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ trên máy lắc tế bào với tốc độ 100-150 vòng/phút.

Freeze medium

Với tư cách là môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sót sau khi rã đông.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $200 \times g$ trong 5 phút, cẩn thận loại bỏ dịch trên chứa môi trường đông lạnh.
7. Thực hiện theo quy trình mô tả trong phần Phục hồi sau khi rã đông

Incubation Atmosphere

37°C , $5\% \text{CO}_2$, môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

HEK293 thích nghi với môi trường nuôi cấy lơ lửng | 300686

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.