Product sheet

HEK293 suspensiooniga kohandatud | 300686

Üldine teave

Description	HEK293 suspensiooniga kohandatud rakuliin on inimese embrüonaalse neeru 293 (HEK293) rakkude variant, mis on modifitseeritud, et kasvada pigem suspensioonikultuuris kui kleepuvas kultuuris. See kohandamine on oluline tööstuslike rakenduste jaoks, kus on vaja laiaulatuslikku valkude tootmist. Rakud säilitavad paljud algse HEK293 liini omadused, sealhulgas tugeva transfektsioonitõhususe ja võime ekspresseeritud valke translatsioonijärgselt muuta sarnaselt emakeelega inimrakkudega. Neid rakke hinnatakse eriti kõrgelt biotehnoloogia- ja farmaatsiatööstuses rekombinantsete valkude ja viiruste tootmiseks geeniteraapia ja vaktsiinide arendamiseks. Kohandamine suspensioonikultuuriga võimaldab kergemat skaleeritavust ja lihtsustab koristusprotsessi, muutes selle sobivamaks tööstuslikuks biotöötluseks. HEK293 suspensiooniga kohandatud rakuliin toetab erinevaid viiruste tootmissüsteeme, sealhulgas adenoviirust, lentiviirust ja adeno-assotsieerunud viirust (AAV), mis on terapeutilistes rakendustes ja teadusuuringutes keskse tähtsusega. Üldiselt on HEK293 suspensiooniga kohandatud rakuliin oluline vahend molekulaarbioloogia ja biotöötluse valdkonnas, pakkudes mitmekülgset platvormi erinevate bioloogiliselt aktiivsete molekulide tootmiseks. Selle lihtne geneetiline manipuleeritavus ja võime toota valke, mis on korrektselt volditud ja translatsioonijärgselt modifitseeritud vastavalt inimese rakumustritele, muudavad selle asendamatuks ressursiks paljudes täiustatud terapeutilistes ja teaduslikes tingimustes.
Organism	Inimene
Tissue	Neerud
Applications	Transfektsiooni peremees

Omadused

Age	Loote
Gender	Naised
Morphology	Ümmargune
Growth properties	Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation	HEK293 suspensiooni adapteeritud (Cytion kataloginumber 300686)
Biosafety level	1

HEK293 suspensiooniga kohandatud | 300686

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: See suspensioonile kohandatud HEK293 rakuliin sisaldab adenoviirusest 5 pärinevaid E1 järjestusi vanemliini HEK293-st, mis toetab suurt proliferatiivset ja valgu ekspressioonivõimet. Modifikatsioon on stabiilselt olemas transformeeritud embrüonaalsetes neerurakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Vitronektiin
Protein expression	CEA negatiivne, p53 positiivne
Tumorigenic	Alasti hiirtel
Virus susceptibility	Transformeeritud adenoviiruse 5 DNAga adenoviiruse 5 DNAga

Töötlemine

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Saksamaa)
Supplements	Täiendused ei ole vajalikud
Dissociation Reagent	Ei nõuta
Subculturing	Hoidke suspensioonrakke rakutihedusega 5 x 10^5 kuni 2-3 x 10^6 rakku/ml Eppendorfi rakukultuurikolvides inkubaatoris 37 °C juures ja 5% CO_2 sisaldusega. Kui rakutihedus on jõudnud 2-3 x 10^6 rakku/ml, tehke subkultuur. Eemaldage rakud ettevaatlikult, et vältida klastrite tekkimist. Kui rakkude tihedus on 1–2 x 10^6 rakku/ml, koguge rakud tsentrifuugides 200xg 5 minutit ja visake supernatant ära. Lahjendage sobivas koguses värskes, eelsoojendatud kultuurikeskkonnas ja loendage rakud, et saada teavet rakkude eluvõimelisuse ja arvu kohta. Koguge rakud 200xg juures 5 minutit tsentrifuugides ja visake supernatant ära. Resuspendeerige rakud sobivas koguses külmutuskeskkonnas ja loendage uuesti. Rakkude eluvõimelisus peaks olema >>80%, soovitatav on rakutihedus 5–10 miljonit rakku/ml. Pipeteerige rakud eelnevalt märgistatud külmutusproovivõtturitesse. Kasutage CoolCell külmutuskonteinerit või kontrollitud kiirusega külmutit, et tagada jahutuskiirus 1 °C/min.

HEK293 suspensiooniga kohandatud | 300686

Seeding density	5 x 10^5 rakku/ml
Post-Thaw Recovery	Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5 x 10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon optimaalse kasvu tagamiseks 2–3 x 10^6 rakku/ml. Inkubeerige 37 °C juures/5% CO_2 rakukatseaparaadis kiirusel 100–150 rpm.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant. 7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HEK293 suspensiooniga kohandatud | 300686

Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.