Product sheet

HEK293 suspensiolla mukautettu | 300686

Yleisiä tietoja

Description	HEK293-suspensiosolulinja on ihmisen alkiomunuaisen 293-solujen (HEK293) muunnos, joka on muunnettu kasvamaan suspensioviljelyssä adheesioviljelyn sijasta. Tämä mukautus on merkittävä teollisissa sovelluksissa, joissa tarvitaan laajamittaista proteiinituotantoa. Solut säilyttävät monet alkuperäisen HEK293-linjan ominaisuuksista, kuten vankan transfektiotehokkuuden ja kyvyn muuttaa ekspressoituja proteiineja translaation jälkeen samalla tavalla kuin natiivit ihmissolut. Näitä soluja arvostetaan erityisesti bioteknologia- ja lääketeollisuudessa rekombinanttiproteiinien ja -virusten tuottamiseen geeniterapiaa ja rokotekehitystä varten. Suspensioviljelyyn sopeutuminen mahdollistaa helpomman skaalautuvuuden ja yksinkertaistaa sadonkorjuuprosessia, jolloin se soveltuu paremmin kaupallisen mittakaavan bioprosessointiin. HEK293-suspensioviljelyyn mukautettu solulinja tukee erilaisia virustuotantojärjestelmiä, kuten adenovirusta, lentivirusta ja adeno-assosioitunutta virusta (AAV), jotka ovat keskeisiä terapeuttisissa sovelluksissa ja tutkimuksessa. Kaiken kaikkiaan HEK293-suspensio-adaptiosolulinja on tärkeä väline molekyylibiologian ja bioprosessoinnin alalla, sillä se tarjoaa monipuolisen alustan erilaisten biologisesti aktiivisten molekyylien tuottamiseen. Sen helppous geneettisessä manipuloinnissa ja kyky tuottaa proteiineja, jotka ovat oikein taitettuja ja translaation jälkeen muunnettuja ihmisen solumallien mukaisesti, tekevät siitä korvaamattoman resurssin monissa kehittyneissä terapeuttisissa ja tutkimusasetuksissa.
Organism	Ihminen
Tissue	Munuaiset
Applications	Transfektion isäntä

Ominaisuudet

Age	Sikiö
Gender	Nainen
Morphology	Pyöreä
Growth properties	Jousitus

Sääntelytiedot

Citation	HEK293 suspensio-adaptioitu (Cytionin luettelonumero 300686)
Biosafety level	1

HEK293 suspensiolla mukautettu | 300686

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Tämä suspensioon sopeutettu HEK293-solulinja sisältää adenoviruksesta 5 peräisin olevia E1-sekvenssejä emosolulinjasta HEK293, mikä tukee korkeaa proliferaatiokykyä ja proteiinin ilmentymiskykyä. Muutos on stabiilisti läsnä transformoiduissa alkion munuaisissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Vitronektiini
Protein expression	CEA negatiivinen, p53 positiivinen
Tumorigenic	Alastomilla hiirillä
Virus susceptibility	Muunnettu adenovirus 5 DNA:lla adenovirus 5 DNA:lla

Käsittely

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Saksa)
Supplements	Lisäravinteita ei tarvita
Dissociation Reagent	Ei vaadita
Subculturing	Säilytä suspensiosolut solutiheyksillä 5 x 10^5 ja 2-3 x 10^6 solua/ml Eppendorf-soluviljelypulloissa ravistimella inkubaattorissa 37 °C:ssa/5 % CO_2:ssa. Tee aliviljely, kun solutiheys on saavuttanut 2-3 x 10^6 solua/ml. Irrota solut varovasti, jotta ne eivät muodosta klustereita. Kun solutiheys on 1–2 x 10^6 solua/ml, kerää solut sentrifugoimalla 200 x g:n nopeudella 5 minuutin ajan ja hävitä supernatantti. Laimenna sopivalla määrällä tuoretta, esilämmitettyä viljelyainetta ja laske solut, jotta saat tietoa solujen elinkelpoisuudesta ja lukumäärästä. Kerää solut sentrifugoimalla 200 x g:n nopeudella 5 minuutin ajan ja hävitä supernatantti. Suspendoi solut uudelleen sopivaan määrään pakastusväliainetta ja laske ne uudelleen. Solujen elinkykyisyyden tulisi olla >>80 %, suositeltava solutiheys on 5–10 miljoonaa solua/ml. Pipetoi solut valmiiksi merkittyihin kryoputkiin. Käytä joko CoolCell-jäädytysastiaa tai kontrolloitua pakastinta, jotta jäähdytysnopeus on 1 °C/min.

HEK293 suspensiolla mukautettu | 300686

Seeding density	5 x 10^5 solua/ml
Post-Thaw Recovery	Aloita viljely tiheydellä 5 x 10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus 2–3 x 10^6 solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi. Inkuboi 37 °C:ssa/5 % CO_2:ssa soluravistimella 100–150 rpm:n nopeudella.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.