Product sheet

HEK293 szuszpenzióval adaptált | 300686

Általános információk

Description	A HEK293 szuszpenziós adaptált sejtvonal a 293-as humán embrionális vesesejtek (HEK293) egy olyan változata, amelyet úgy módosítottunk, hogy adhezív kultúra helyett szuszpenziós kultúrában növekedjen. Ez az adaptáció jelentős az olyan ipari alkalmazásokban, ahol nagy mennyiségű fehérje előállítására van szükség. A sejtek megtartják az eredeti HEK293 vonal számos jellemzőjét, beleértve a robusztus tranziens transzfekciós hatékonyságot és a kifejezett fehérjék poszt-transzlációs módosításának képességét a natív emberi sejtekhez hasonló módon. Ezeket a sejteket különösen nagyra értékelik a biotechnológiai és gyógyszeriparban a génterápiához és vakcinafejlesztéshez szükséges rekombináns fehérjék és vírusok előállítása céljából. A szuszpenziós tenyésztéshez való alkalmazkodás lehetővé teszi a könnyebb skálázhatóságot és egyszerűsíti a betakarítási folyamatot, így alkalmasabbá teszi a kereskedelmi méretű biológiai feldolgozásra. A HEK293 szuszpenzióhoz adaptált sejtvonal támogatja a különböző vírusgyártó rendszereket, beleértve az adenovírust, a lentivírust és az adeno-asszociált vírust (AAV), amelyek kulcsfontosságúak a terápiás alkalmazásokban és a kutatásban. Összességében a HEK293 szuszpenzióval adaptált sejtvonal kulcsfontosságú eszköz a molekuláris biológia és a biofeldolgozás területén, mivel sokoldalú platformot biztosít különböző biológiailag aktív molekulák előállításához. Könnyű genetikai manipulálhatósága és az emberi sejtmintáknak megfelelően helyesen összehajtogatott és poszttranszlációsan módosított fehérjék előállítására való képessége számos fejlett terápiás és kutatási környezetben nélkülözhetetlen erőforrássá teszi.
Organism	Emberi
Tissue	Vese
Applications	Transzfekciós gazdatest

Jellemzők

Age	Magzat
Gender	Női
Morphology	Kerek
Growth properties	Felfüggesztés

Szabályozási adatok

Citation	HEK293 szuszpenzióval adaptált (Cytion katalógusszám: 300686)

HEK293 szuszpenzióval adaptált | 300686

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ez a szuszpenzióhoz alkalmazkodó HEK293 sejtvonal a szülői HEK293 vonalból származó adenovírus 5-ből származó E1 szekvenciákat tartalmaz, amelyek támogatják a magas proliferációs és fehérjeexpressziós kapacitást. A módosítás stabilan jelen van a transzformált embrionális vese sejtekben. Ez a besorolás csak Németországon belül érvényes, máshol eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA negatív, p53 pozitív
Tumorigenic	Meztelen egerekben
Virus susceptibility	Adenovírus 5 DNS-sel átalakítva adenovírus 5 DNS-sel

A kezelése

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Németország)
Supplements	Nincs szükség kiegészítőkre
Dissociation Reagent	Nem szükséges

HEK293 szuszpenzióval adaptált | 300686

Subculturing	Tartsa a szuszpenziós sejteket 5 x 10^5 és 2-3 x 10^6 sejt/ml közötti sejtsűrűségben Eppendorf sejtkultúra-lombikokban, rázógépen, 37 °C/5% CO_2-tartalmú inkubátorban. A sejtsűrűség elérése után 2-3 x 10^6 sejt/ml, végezzen szubkultúrát. Óvatosan távolítsa el a sejteket, hogy ne alakuljanak ki csomók. Miután a sejtsűrűség elérte az 1-2 x 10^6 sejt/ml értéket, centrifugálással gyűjtsük össze a sejteket 200xg-vel 5 percig, és a felülúszót dobjuk ki. Hígítsuk megfelelő mennyiségű friss, előmelegített tenyésztőközeggel, és számoljuk meg a sejteket, hogy információt kapjunk a sejtek életképességéről és számáról. Gyűjtse össze a sejteket 200xg-os centrifugálással 5 percig, és dobja ki a felülúszót. Szuszpendálja újra a sejteket megfelelő mennyiségű fagyasztó táptalajban, és számolja meg őket még egyszer. A sejtek életképességének >>80%nak kell lennie, a sejtsűrűségnek 5-10 millió sejt/ml-nek kell lennie. Pipettázza a sejteket előre címkézett kriovialákba. Használjon CoolCell fagyasztóedényt vagy szabályozott sebességű fagyasztót, hogy biztosítsa a 1°C/perc hűtési sebességet.
Seeding density	5 x 10^5 sejt/ml
Post-Thaw Recovery	Kezdje el a tenyésztést 5 x 10^5 sejt/ml sűrűséggel, és tartsa a sejtkoncentrációt 2-3 x 10^6 sejt/ml szinten az optimális növekedés érdekében. Inkubálja 37 °C-on/5% $CO_{2\text{-koncentráció}}$ mellett, 100-150 rpm sebességű sejtrázógépen.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 200 x g-nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

HEK293 szuszpenzióval adaptált | 300686

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.