Product sheet

HEK293 suspensija adaptuota | 300686

Bendra informacija

Description	HEK293 suspensijai pritaikyta ląstelių linija yra žmogaus embrioninio inksto 293 (HEK293) ląstelių atmaina, kuri buvo modifikuota taip, kad augtų suspensijos, o ne adhezinėje kultūroje. Šis pritaikymas yra svarbus pramoninėms reikmėms, kai reikia gaminti didelio masto baltymus. Ląstelės išlaiko daugelį originalios HEK293 linijos savybių, įskaitant didelį pereinamosios transfekcijos veiksmingumą ir gebėjimą po transliacijos modifikuoti išreiškiamus baltymus panašiai kaip gimtosios žmogaus ląstelės. Šios ląstelės ypač vertinamos biotechnologijų ir farmacijos pramonėje gaminant rekombinantinius baltymus ir virusus genų terapijai ir vakcinų kūrimui. Pritaikymas suspensijos kultūroms leidžia lengviau išplėsti ir supaprastina derliaus nuėmimo procesą, todėl yra tinkamesnis komerciniam biotechnologiniam apdorojimui. HEK293 suspensijai pritaikyta ląstelių linija palaiko įvairias virusų gamybos sistemas, įskaitant adenovirusus, lentivirusus ir adenoasocijuotuosius virusus (AAV), kurie yra labai svarbūs gydymui ir moksliniams tyrimams. Apskritai HEK293 suspensijos adaptuota ląstelių linija yra labai svarbi priemonė molekulinės biologijos ir biologinio perdirbimo srityse, suteikianti universalią platformą įvairioms biologiškai aktyvioms molekulėms gaminti. Dėl lengvo genetinio manipuliavimo ir gebėjimo gaminti baltymus, kurie yra teisingai sulankstyti ir posttransliaciniu būdu modifikuoti pagal žmogaus ląstelių modelius, ji yra nepakeičiamas šaltinis daugelyje pažangių terapijos ir mokslinių tyrimų sričių.
Organism	Žmogus
Tissue	Inkstai
Applications	Transfekcijos šeimininkas

Charakteristikos

Age	Vaisius
Gender	Moteris
Morphology	Apvalus
Growth properties	Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation	HEK293 suspensija adaptuota (Cytion katalogo numeris 300686)
Biosafety level	1

HEK293 suspensija adaptuota | 300686

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ši suspensijai pritaikyta HEK293 ląstelių linija turi adenoviruso 5 kilmės E1 sekas iš pirminės HEK293 linijos, kurios palaiko didelį proliferacijos ir baltymų ekspresijos pajėgumą. Modifikacija yra stabiliai išlikusi transformuotose embrioninėse inkstų ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Vitronektinas
Protein expression	CEA neigiamas, p53 teigiamas
Tumorigenic	Su nuogomis pelėmis
Virus susceptibility	Transformuota su adenoviruso 5 DNR adenoviruso 5 DNR

Tvarkymas

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Vokietija)
Supplements	Papildų nereikia
Dissociation Reagent	Nereikalaujama
Subculturing	Suspensijos ląsteles išlaikykite 5 x 10^5–2–3 x 10^6 ląstelių/ml tankiu Eppendorf ląstelių kultūros kolbose, esančiose inkubatoriuje 37 °C temperatūroje ir 5 % CO_2 koncentracijoje. Kai ląstelių tankis pasiekia 2–3 x 10^6 ląstelių/ml, atlikite subkultūrą. Atsargiai atskirkite ląsteles, kad nesusidarytų sankaupų. Kai ląstelių tankis pasiekia 1–2 x 10^6 ląstelių/ml, surinkite ląsteles centrifuguojant 200xg 5 min. ir išmeskite supernatanto likučius. Praskieskite tinkamu kiekiu šviežio, iš anksto pašildyto kultūrinio terpės ir suskaičiuokite ląsteles, kad gautumėte informaciją apie ląstelių gyvybingumą ir skaičių. Surinkite ląsteles centrifuguojant 200xg greičiu 5 minutes ir išmeskite supernatanto likučius. Pakartotinai suspenduokite ląsteles tinkamu kiekiu šaldymo terpės ir dar kartą suskaičiuokite. Ląstelių gyvybingumas turėtų būti >>80 %, rekomenduojamas ląstelių tankis – 5–10 milijonų ląstelių/ml. Pipete perkelkite ląsteles į iš anksto paženklintas krioviales. Naudokite „CoolCell“ šaldymo indą arba kontroliuojamo greičio šaldiklį, kad užtikrintumėte 1 °C/min. aušinimo greitį.

HEK293 suspensija adaptuota | 300686

Seeding density	5 x 10^5 ląstelių/ml
Post-Thaw Recovery	Inicijuokite kultūras, kurių tankis yra 5 x 10^5 ląstelių/ml, ir palaikykite ląstelių koncentraciją iki 2-3 x 10^6 ląstelių/ml, kad augimas būtų optimalus. Inkubuokite 37 °C/5 % CO_2 temperatūroje ląstelių maišyklėje 100-150 aps/min greičiu.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe. 7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HEK293 suspensija adaptuota | 300686

Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.