Product sheet

HEK293 suspensijas adaptācija | 300686

Vispārīga informācija

Description	HEK293 suspensijai pielāgotā šūnu līnija ir cilvēka embrionālo nieru 293 (HEK293) šūnu variants, kas ir modificēts, lai augtu suspensijas kultūrā, nevis adherentā kultūrā. Šī pielāgošana ir nozīmīga rūpnieciskiem lietojumiem, kur nepieciešama liela apjoma olbaltumvielu ražošana. Šūnām saglabātas daudzas oriģinālās HEK293 līnijas īpašības, tostarp stabila pārejas transfekcijas efektivitāte un spēja pēc translācijas modificēt ekspresētos proteīnus līdzīgi kā dabiskajās cilvēka šūnās. Šīs šūnas ir īpaši novērtētas biotehnoloģiju un farmācijas nozarē, lai ražotu rekombinantus proteīnus un vīrusus gēnu terapijai un vakcīnu izstrādei. Pielāgošana suspensijas kultūrai ļauj vieglāk mērogot un vienkāršot novākšanas procesu, padarot to piemērotāku komerciāla mēroga bioprocesiem. HEK293 šūnu līnija, kas pielāgota suspensijai, atbalsta dažādas vīrusu ražošanas sistēmas, tostarp adenovīrusu, lentivīrusu un adenoasociēto vīrusu (AAV), kas ir ļoti svarīgi terapeitiskiem lietojumiem un pētījumiem. Kopumā HEK293 suspensijas adaptēto šūnu līnija ir svarīgs instruments molekulārās bioloģijas un bioprocesēšanas jomā, nodrošinot daudzpusīgu platformu dažādu bioloģiski aktīvu molekulu ražošanai. Tās vieglā ģenētiskā manipulācija un spēja ražot proteīnus, kas ir pareizi salocīti un pēc translācijas modificēti atbilstoši cilvēka šūnu modeļiem, padara to par neaizstājamu resursu daudzās modernās terapeitiskās un pētniecības jomās.
Organism	Cilvēks
Tissue	Nieres
Applications	Transfekcijas saimnieks

Raksturojums

Age	Auglis
Gender	Sievietes
Morphology	Apaļš
Growth properties	Apturēšana

Normatīvie dati

Citation	HEK293 suspensijas adaptācija (Cytion kataloga numurs 300686)
Biosafety level	1

HEK293 suspensijas adaptācija | 300686

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Šī suspensijai pielāgota HEK293 šūnu līnija satur adenovīrusa 5 atvasinātas E1 sekvences no vecāku HEK293 līnijas, kas nodrošina augstu proliferatīvo un proteīnu ekspresijas spēju. Modifikācija ir stabili klātesoša transformētās embrija nieru šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	Vitronektīns
Protein expression	CEA negatīvs, p53 pozitīvs
Tumorigenic	Plikām pelēm
Virus susceptibility	Transformēta ar adenovīrusa 5 DNS adenovīrusa 5 DNS

Darbs ar

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Vācija)
Supplements	Papildinājumi nav nepieciešami
Dissociation Reagent	Nav nepieciešams
Subculturing	Uzturiet suspensijas šūnas šūnu blīvumā no 5 x 10^5 līdz 2-3 x 10^6 šūnas/ml Eppendorf šūnu kultūras kolbās uz kratītāja inkubatorā 37 °C/5 % CO_2 temperatūrā. Veiciet subkultivāciju, kad šūnu blīvums sasniedzis 2-3 x 10^6 šūnas/ml. Uzmanīgi atdaliet šūnas, lai izvairītos no to sakopojumiem. Kad šūnu blīvums sasniedzis 1–2 x 10^6 šūnas/ml, savāc šūnas, centrifugējot 200xg 5 minūtes, un izlej supernatantu. Atšķaidi atbilstošā daudzumā svaigā, iepriekš uzsildītā kultūras vidē un saskaiti šūnas, lai iegūtu informāciju par šūnu dzīvotspēju un skaitu. Savāciet šūnas, centrifugējot 200xg 5 minūtes, un izlejiet supernatantu. Atkārtoti suspendējiet šūnas atbilstošā daudzumā sasaldēšanas barotnes un vēlreiz saskaitiet. Šūnu dzīvotspējai jābūt >>80 %, ieteicamais šūnu blīvums ir 5–10 miljoni šūnu/ml. Pipetējiet šūnas iepriekš marķētās kriovialās. Izmantojiet CoolCell sasaldēšanas konteineru vai kontrolēta ātruma saldētāju, lai nodrošinātu atdzesēšanas ātrumu 1 °C/min.

HEK293 suspensijas adaptācija | 300686

Seeding density	5 x 10^5 šūnas/ml
Post-Thaw Recovery	Sāciet kultūras ar blīvumu 5 x 10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju līdz 2-3 x 10^6 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu. Inkubējiet 37 °C/5 % CO_2 temperatūrā uz šūnu kratītāja 100-150 apgr./min.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HEK293 suspensijas adaptācija | 300686

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.