Product sheet

HEK293 adaptovaný na suspenziu | 300686

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia HEK293 adaptovaná na suspenziu je variantom buniek ľudských embryonálnych obličiek 293 (HEK293), ktoré boli upravené tak, aby rástli v suspenznej kultúre namiesto adherentnej kultúry. Táto úprava je dôležitá pre priemyselné aplikácie, kde sa vyžaduje veľkoplošná produkcia proteínov. Bunky si zachovávajú mnohé vlastnosti pôvodnej línie HEK293 vrátane robustnej účinnosti prechodnej transfekcie a schopnosti posttranslačne modifikovať exprimované proteíny spôsobom podobným ako v pôvodných ľudských bunkách. Tieto bunky sú obzvlášť cenené v biotechnologickom a farmaceutickom priemysle na výrobu rekombinantných proteínov a vírusov na génovú terapiu a vývoj vakcín. Prispôsobenie suspenznej kultúre umožňuje ľahšiu škálovateľnosť a zjednodušuje proces zberu, čím sa stáva vhodnejším pre komerčné bioprocesy. Bunková línia HEK293 adaptovaná na suspenznú kultúru podporuje rôzne systémy produkcie vírusov vrátane adenovírusu, lentivírusu a adenoasociovaného vírusu (AAV), ktoré sú kľúčové pre terapeutické aplikácie a výskum. Celkovo je suspenzne adaptovaná bunková línia HEK293 kľúčovým nástrojom v oblasti molekulárnej biológie a bioprocesingu, ktorý poskytuje univerzálnu platformu na produkciu rôznych biologicky aktívnych molekúl. Jej jednoduchá genetická manipulácia a schopnosť produkovať proteíny, ktoré sú správne zložené a posttranslačne modifikované podľa vzorov ľudských buniek, z nej robia nenahraditeľný zdroj v mnohých pokročilých terapeutických a výskumných podmienkach.
Organism	Ľudské
Tissue	Obličky
Applications	Transfekčný hostiteľ

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Ženy
Morphology	Okrúhle
Growth properties	Pozastavenie

Regulačné údaje

Citation	HEK293 adaptovaná suspenzia (katalógové číslo Cytion 300686)
Biosafety level	1

HEK293 adaptovaný na suspenziu | 300686

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Táto bunka HEK293 prispôsobená na suspenziu obsahuje sekvencie E1 odvodené z adenovírusu 5 z rodičovskej bunky HEK293, čo podporuje vysokú proliferatívnu schopnosť a schopnosť expresie proteínov. Modifikácia je stabilne prítomná v transformovaných embryonálnych obličkových bunkách. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Receptors expressed	Vitronektín
Protein expression	CEA negatívny, p53 pozitívny
Tumorigenic	Na nahých myšiach
Virus susceptibility	Transformované adenovírusom 5 DNA adenovírusom 5 DNA

Spracovanie

Culture Medium	Panserin 293S (PanBiotech, Nemecko)
Supplements	Nie sú potrebné žiadne doplnky
Dissociation Reagent	Nevyžaduje sa
Subculturing	Udržujte suspenzné bunky pri hustote buniek medzi 5 x 10^5 a 2-3 x 10^6 buniek/ml v Eppendorfových fľašiach na kultiváciu buniek na trepačke v inkubátore pri teplote 37 °C/5 % CO_2. Akonáhle hustota buniek dosiahne 2-3 x 10^6 buniek/ml, vykonajte subkultiváciu. Opatrne uvoľnite bunky, aby sa nevytvorili zhluky. Akonáhle dosiahnete hustotu buniek 1-2 x 10^6 buniek/ml, zberajte bunky centrifugáciou pri 200xg počas 5 minút a zlikvidujte supernatant. Zrieďte v primeranom objeme čerstvého, predhriateho kultivačného média a spočítajte bunky, aby ste získali informácie o životaschopnosti a počte buniek. Zbierz komórki przez odwirowanie przy 200xg przez 5 minut i wylej supernatant. Ponownie zawieś komórki w odpowiedniej objętości medium zamrażającego i ponownie je policz. Životaschopnosť buniek by mala byť >>80 %, odporúča sa hustota buniek 5 – 10 miliónov buniek/ml. Pipetujte bunky do vopred označených kryovialiek. Použite buď mraziaci kontajner CoolCell, alebo mrazničku s kontrolovanou rýchlosťou, aby ste zabezpečili rýchlosť chladenia 1 °C/min.

HEK293 adaptovaný na suspenziu | 300686

Seeding density	5 x 10^5 buniek/ml
Post-Thaw Recovery	Kultúry iniciujte pri hustote 5 x 10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržujte koncentráciu buniek na úrovni 2-3 x 10^6 buniek/ml. Inkubujte pri 37 °C/5 % CO_2 na trepačke buniek pri 100-150 ot/min.
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

HEK293 adaptovaný na suspenziu | 300686

Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.