

HEK293 suspensiooniga kohandatud | 300686

Üldine teave

Description

HEK293 suspensiooniga kohandatud rakuliin on inimese embrüonaalse neeru 293 (HEK293) rakkude variant, mis on modifitseeritud, et kasvada pigem suspensioonikultuuris kui kleepuvas kultuuris. See kohandamine on oluline tööstuslike rakenduste jaoks, kus on vaja laiaulatuslikku valkude tootmist. Rakud säilitavad paljud algse HEK293 liini omadused, sealhulgas tugeva transfektsioonitõhususe ja võime ekspresseeritud valke translatsioonijärgselt muuta sarnaselt emakeelega inimrakkudega.

Neid rakke hinnatakse eriti kõrgelt biotehnoloogia- ja farmaatsiatööstuses rekombinantsete valkude ja viiruste tootmiseks geeniteraapia ja vaktsiinide arendamiseks. Kohandamine suspensioonikultuuriga võimaldab kergemat skaleeritavust ja lihtsustab koristusprotsessi, muutes selle sobivamaks tööstuslikuks biotöötluks. HEK293 suspensiooniga kohandatud rakuliin toetab erinevaid viiruste tootmissüsteeme, sealhulgas adenoviirust, lentiviirust ja adeno-assotsieerunud viirust (AAV), mis on terapeutilistes rakendustes ja teadusuuringutes keskse tähtsusega.

Üldiselt on HEK293 suspensiooniga kohandatud rakuliin oluline vahend molekulaarbioloogia ja biotöötluks valdkonnas, pakkudes mitmekülgset platvormi erinevate bioloogiliselt aktiivsete molekulide tootmiseks. Selle lihtne geneetiline manipuleeritavus ja võime toota valke, mis on korrektselt volditud ja translatsioonijärgselt modifitseeritud vastavalt inimese rakumustritele, muudavad selle asendamatuks ressursiks paljudes täiustatud terapeutilistes ja teaduslikes tingimustes.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Applications Transfektsiooni peremees

Omadused

Age Loote

Gender Naised

Morphology Ümmargune

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation HEK293 suspensiooni adapteeritud (Cytion katalooginumber 300686)

Biosafety level 1

HEK293 suspensiooniga kohandatud | 300686

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0045

GMO Status GMO-S1: See suspensioonile kohandatud HEK293 rakuliin sisaldab adenoviirusest 5 pärinevaid E1 järjestusi vanemliini HEK293-st, mis toetab suurt proliferatiivset ja valgu ekspressioonivõimet. Modifikatsioon on stabiilselt olemas transformeeritud embrüonaalsetes neerurakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Vitronektiin

Protein expression CEA negatiivne, p53 positiivne

Tumorigenic Alasti hiirtel

Virus susceptibility Transformeeritud adenoviiruse 5 DNAGA adenoviiruse 5 DNAGA

Töötlemine

Culture Medium Panserin 293S (PanBiotech, Saksamaa)

Supplements Täiendused ei ole vajalikud

Dissociation Reagent Ei nõuta

Subculturing Hoidke suspensioonrakke rakutihedusega 5×10^5 kuni $2-3 \times 10^6$ rakku/ml Eppendorfi rakukultuurikolvides inkubaatoris 37 °C juures ja 5% CO₂ sisaldusega. Kui rakutihedus on jõudnud $2-3 \times 10^6$ rakku/ml, tehke subkultuur. Eemaldage rakud ettevaatlikult, et vältida klastrite tekkimist. Kui rakkude tihedus on $1-2 \times 10^6$ rakku/ml, koguge rakud tsentrifuugides 200xg 5 minutit ja visake supernatant ära. Lahjendage sobivas koguses värskes, eelsoojendatud kultuurikeskkonnas ja loendage rakud, et saada teavet rakkude eluvõimelisuse ja arvu kohta. Koguge rakud 200xg juures 5 minutit tsentrifuugides ja visake supernatant ära. Resuspendeerige rakud sobivas koguses külmutuskeskkonnas ja loendage uuesti. Rakkude eluvõimelisus peaks olema >>80%, soovitatav on rakutihedus 5–10 miljonit rakku/ml. Pipeteerige rakud eelnevalt märgistatud külmutusproovivõtturitesse. Kasutage CoolCell külmutuskonteinerit või kontrollitud kiirusega külmutit, et tagada jahutuskiirus 1 °C/min.

HEK293 suspensiooniga kohandatud | 300686

Seeding density 5 x 10⁵ rakku/ml

Post-Thaw Recovery Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5 x 10⁵ rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon optimaalse kasvu tagamiseks 2–3 x 10⁶ rakku/ml. Inkubeerige 37 °C juures/5% CO₂ rakukatsesparaadis kiirusel 100–150 rpm.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakesuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovime kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HEK293 suspensiooniga kohandatud | 300686

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.