

HEK293 suspensiolla mukautettu | 300686

Yleisiä tietoja

Description

HEK293-suspensiosolulinja on ihmisen alkionmunuaisen 293-solujen (HEK293) muunnos, joka on muunnettu kasvamaan suspensioviljelyssä adheesioviljelyn sijasta. Tämä mukautus on merkittävä teollisissa sovelluksissa, joissa tarvitaan laajamittaista proteiinituotantoa. Solut säilyttävät monet alkuperäisen HEK293-linjan ominaisuuksista, kuten vankan transfektiotehokkuuden ja kyvyn muuttaa ekspressoituja proteiineja translaation jälkeen samalla tavalla kuin natiivit ihmisolut.

Näitä soluja arvostetaan erityisesti bioteknologia- ja lääketeollisuudessa rekombinanttiproteiinien ja -virusten tuotannossa geeniterapiaa ja rokotekehitystä varten. Suspensioviljelyyn sopeutuminen mahdollistaa helpomman skaalautuvuuden ja yksinkertaistaa sadonkorjuuprosessia, jolloin se soveltuu paremmin kaupallisen mittakaavan bioprosessointiin. HEK293-suspensioviljelyyn mukautettu solulinja tukee erilaisia virustuotantojärjestelmiä, kuten adenovirusta, lentivirusta ja adeno-assosioitunutta virusta (AAV), jotka ovat keskeisiä terapeuttisissa sovelluksissa ja tutkimuksessa.

Kaiken kaikkiaan HEK293-suspensio-adaptiosolulinja on tärkeä väline molekyylibiologian ja bioprosessoinnin alalla, sillä se tarjoaa monipuolisen alustan erilaisten biologisesti aktiivisten molekyylien tuottamiseen. Sen helppous geneettisessä manipuloinnissa ja kyky tuottaa proteiineja, jotka ovat oikein taitettuja ja translaation jälkeen muunnettuja ihmisen solumallien mukaisesti, tekevät siitä korvaamattoman resurssin monissa kehittyneissä terapeuttisissa ja tutkimusasetuksissa.

Organism

Ihminen

Tissue

Munuaiset

Applications

Transfektion isäntä

Ominaisuudet

Age

Sikiö

Gender

Nainen

Morphology

Pyöreä

Growth properties

Jousitus

Säätelytiedot

Citation

HEK293 suspensio-adaptioitu (Cytionin luettelonumero 300686)

Biosafety level

1

HEK293 suspensiolla mukautettu | 300686

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0045

GMO Status GMO-S1: Tämä suspensioon sopeutettu HEK293-solulinja sisältää adenoviruksesta 5 peräisin olevia E1-sekvenssejä emosolulinjasta HEK293, mikä tukee korkeaa proliferaatiokykyä ja proteiinin ilmentymiskykyä. Muutos on stabiilisti läsnä transformoiduissa alkion munuaisissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed Vitronektiini

Protein expression CEA negatiivinen, p53 positiivinen

Tumorigenic Alastomilla hiirillä

Virus susceptibility Muunnettu adenovirus 5 DNA:lla adenovirus 5 DNA:lla

Käsittely

Culture Medium Panserin 293S (PanBiotech, Saksa)

Supplements Lisäravinteita ei tarvita

Dissociation Reagent Ei vaadita

Subculturing Säilytä suspensiosolut solutiheyksillä 5×10^5 ja $2-3 \times 10^6$ solua/ml Eppendorf-soluviljelypulloissa ravistimella inkubaattorissa 37°C :ssa/5 % CO_2 :ssa. Tee aliviljely, kun solutiheys on saavuttanut $2-3 \times 10^6$ solua/ml. Irrota solut varovasti, jotta ne eivät muodosta klustereita. Kun solutiheys on $1-2 \times 10^6$ solua/ml, kerää solut sentrifugoimalla $200 \times g$:n nopeudella 5 minuutin ajan ja hävitä supernatantti. Laimenna sopivalla määrällä tuoretta, esilämmitettyä viljelyainetta ja laske solut, jotta saat tietoa solujen elinkelpoisuudesta ja lukumäärästä. Kerää solut sentrifugoimalla $200 \times g$:n nopeudella 5 minuutin ajan ja hävitä supernatantti. Suspendoi solut uudelleen sopivaan määrään pakastusväliainetta ja laske ne uudelleen. Solujen elinkykyisyyden tulisi olla $>80\%$, suositeltava solutiheys on 5–10 miljoonaa solua/ml. Pipetoi solut valmiiksi merkittyihin kryoputkiin. Käytä joko CoolCell-jäädytysastiaa tai kontrolloitua pakastinta, jotta jäähdytysnopeus on $1^\circ\text{C}/\text{min}$.

HEK293 suspensiolla mukautettu | 300686

Seeding density 5 x 10⁵ solua/ml

Post-Thaw Recovery Aloita viljely tiheydellä 5 x 10⁵ solua/ml ja pidä solupitoisuus 2–3 x 10⁶ solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi. Inkuboi 37 °C:ssa/5 % CO₂ssa soluravistimella 100–150 rpm:n nopeudella.

Freeze medium Kryosäilytysmediaa käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40–60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEK293 suspensiolla mukautettu | 300686

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.