

HEK293 suspension-tilpasset | 300686**Generel information****Description**

Den suspensionstilpassede HEK293-cellelinje er en variant af den humane embryonale nyre 293 (HEK293), som er blevet modificeret til at vokse i suspensionskultur i stedet for vedhæftende kultur. Denne tilpasning er vigtig for industrielle anvendelser, hvor der er behov for proteinproduktion i stor skala. Cellerne bevarer mange af egenskaberne ved den oprindelige HEK293-linje, herunder en robust transient transfektionseffektivitet og evnen til posttranslationelt at modificere udtrykte proteiner på en måde, der svarer til den i oprindelige humane celler.

Disse celler er særligt værdsatte i den bioteknologiske og farmaceutiske industri til produktion af rekombinante proteiner og vira til genterapi og vaccineudvikling. Tilpasningen til suspensionskultur giver mulighed for lettere skalerbarhed og forenkler høstprocessen, hvilket gør den mere velegnet til bioprocesser i kommerciel skala. Den suspensionstilpassede HEK293-cellelinje understøtter forskellige virale produktionssystemer, herunder adenovirus, lentivirus og adenoassocieret virus (AAV), som er centrale i terapeutiske anvendelser og forskning.

Samlet set er HEK293-cellelinjen et afgørende værktøj inden for molekylærbiologi og bioprocessing, som giver en alsidig platform til produktion af forskellige biologisk aktive molekyler. Dens lette genetiske manipulation og evne til at producere proteiner, der er korrekt foldet og posttranslationelt modificeret i henhold til menneskelige cellemønstre, gør den til en uundværlig ressource i mange avancerede terapeutiske og forskningsmæssige sammenhænge.

Organism Menneske**Tissue** Nyre**Applications** Vært for transfektion**Karakteristika****Age** Foster**Gender** Kvinde**Morphology** Runde**Growth properties** Ophængning**Regulatoriske data****Citation** HEK293 suspension-adapted (Cytion katalognummer 300686)**Biosafety level** 1

HEK293 suspension-tilpasset | 300686**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0045**GMO Status** GMO-S1: Denne suspensions tilpassede HEK293-cellelinje indeholder adenovirus 5-afledte E1-sekvenser fra den oprindelige HEK293-linje, hvilket understøtter høj proliferativ og proteinekspressionskapacitet. Modifikationen er stabilt til stede i transformerede embryonale nyreceller. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.**Biomolekylære data****Receptors expressed** Vitronektin**Protein expression** CEA-negativ, p53-positiv**Tumorigenic** I nøgne mus**Virus susceptibility** Transformeret med adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA**Håndtering****Culture Medium** Panserin 293S (PanBiotech, Tyskland)**Supplements** Der kræves ingen kosttilskud**Dissociation Reagent** Ikke påkrævet**Subculturing** Opbevar suspensionscellerne ved en celletæthed mellem 5×10^5 og $2-3 \times 10^6$ celler/ml i Eppendorf-cellekulturflasker på en ryster i en inkubator ved $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Underkultiver, når celletætheden har nået $2-3 \times 10^6$ celler/ml. Fjern forsigtigt cellerne for at undgå klumper. Når celletætheden på $1-2 \times 10^6$ celler/ml er opnået, opsaml cellerne ved centrifugering ved $200 \times g$ i 5 minutter, og supernatanten kasseres. Fortynd i et passende volumen frisk, forvarmet dyrkningsmedium, og tæl cellerne for at få oplysninger om cellernes levedygtighed og antal. Opsaml cellerne ved centrifugering ved $200 \times g$ i 5 minutter, og kassér supernatanten. Resuspender cellerne i en passende mængde frysemedium, og tæl dem igen. Cellernes levedygtighed bør være $>>80\%$, og en celletæthed på 5-10 millioner celler/ml anbefales. Pipetter cellerne over i forudmærkede kryorør. Brug enten en CoolCell-frysebeholder eller en fryser med kontrolleret hastighed for at sikre en afkølingshastighed på $1^\circ\text{C}/\text{min}$.

HEK293 suspension-tilpasset | 300686

Seeding density 5 x 10⁵ celler/ml

Post-Thaw Recovery Start kulturterne med en tæthed på 5 x 10⁵ celler/ml og hold cellekoncentrationen på 2-3 x 10⁶ celler/ml for optimal vækst. Inkuber ved 37 °C/5 % CO₂ på en celleryster ved 100-150 omdrejninger pr. minut.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celsuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

HEK293 suspension-tilpasset | 300686

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.