

**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 neeurakkudes. 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  $5 \times 10^5$  kuni  $2-3 \times 10^6$  rakku/ml Eppendorfi rakukultuurikolvides inkubaatoris 37 °C juures ja 5% CO<sub>2</sub> 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 10<sup>5</sup> rakku/ml

**Post-Thaw Recovery** Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5 x 10<sup>5</sup> rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon optimaalse kasvu tagamiseks 2–3 x 10<sup>6</sup> rakku/ml. Inkubeerige 37 °C juures/5% CO<sub>2</sub> rakukatseparaadis 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 rakususpensioon 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% CO<sub>2</sub>, niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating** Puudub

**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.