

**HEK293 szuszpenzióval adaptált | 300686****Általános információk****Description**

A HEK293 szuszpenziós adaptált sejtvonal a 293-as humán embrionális vesesejtek (HEK293) egy olyan változata, amelyet úgy módosítottunk, hogy adhezív kultúra helyett szuszpenziós kultúrában növekedjen. Ez az adaptáció jelentős az olyan ipari alkalmazásokban, ahol nagy mennyiségű fehérje előállítására van szükség. A sejtek megtartják az eredeti HEK293 vonal számos jellemzőjét, beleértve a robusztus transziens transzfecció hatékonyságot és a kifejezett fehérjék poszt-transzlációs módosításának képességét a natív emberi sejtekhez hasonló módon.

Ezeket a sejteket különösen nagyra értékelik a biotechnológiai és gyógyszeriparban a génterápiához és vakcinafejlesztéshez szükséges rekombináns fehérjék és vírusok előállítása céljából. A szuszpenziós tenyésztéshez való alkalmazkodás lehetővé teszi a könnyebb skálázhatóságot és egyszerűsíti a betakarítási folyamatot, így alkalmasabbá teszi a kereskedelmi méretű biológiai feldolgozásra. A HEK293 szuszpenzióhoz adaptált sejtvonal támogatja a különböző vírusgyártó rendszereket, beleértve az adenovírust, a lentivírust és az adeno-asszociált vírust (AAV), amelyek kulcsfontosságúak a terápiás alkalmazásokban és a kutatásban.

Összességében a HEK293 szuszpenzióval adaptált sejtvonal kulcsfontosságú eszköz a molekuláris biológia és a biofeldolgozás területén, mivel sokoldalú platformot biztosít különböző biológiailag aktív molekulák előállításához. Könnyű genetikai manipulálhatósága és az emberi sejtmintáknak megfelelően helyesen összehajtogatott és poszttranszlációsan módosított fehérjék előállítására való képessége számos fejlett terápiás és kutatási környezetben nélkülözhetetlen erőforrássá teszi.

**Organism** Emberi**Tissue** Vese**Applications** Transzfecció gazdatest**Jellemzők****Age** Magzat**Gender** Női**Morphology** Kerek**Growth properties** Felfüggesztés**Szabályozási adatok****Citation** HEK293 szuszpenzióval adaptált (Cytion katalógusszám: 300686)

**HEK293 szuszpenzióval adaptált | 300686****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0045**GMO Status** GMO-S1: Ez a szuszpenzióhoz alkalmazkodó HEK293 sejtvonal a szülői HEK293 vonalból származó adenovírus 5-ből származó E1 szekvenciákat tartalmaz, amelyek támogatják a magas proliferációs és fehérjeexpressziós kapacitást. A módosítás stabilan jelen van a transzformált embrionális vese sejtekben. Ez a besorolás csak Németországon belül érvényes, máshol eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Receptors expressed** Vitronectin**Protein expression** CEA negatív, p53 pozitív**Tumorigenic** Meztelen egerekben**Virus susceptibility** Adenovírus 5 DNS-sel átalakítva adenovírus 5 DNS-sel**A kezelése****Culture Medium** Panserin 293S (PanBiotech, Németország)**Supplements** Nincs szükség kiegészítőkre**Dissociation Reagent** Nem szükséges

**HEK293 szuszpenzióval adaptált | 300686**

**Subculturing** Tartsa a szuszpenziós sejteket  $5 \times 10^5$  és  $2-3 \times 10^6$  sejt/ml közötti sejtsűrűségben Eppendorf sejt kultúra-lombikokban, rázógépen,  $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ -tartalmú inkubátorban. A sejtsűrűség elérése után  $2-3 \times 10^6$  sejt/ml, végezzen szubkultúrát. Óvatosan távolítsa el a sejteket, hogy ne alakuljanak ki csomók. Miután a sejtsűrűség elérte az  $1-2 \times 10^6$  sejt/ml értéket, centrifugálással gyűjtsük össze a sejteket 200xg-vel 5 percig, és a felülúszót dobjuk ki. Hígítsuk megfelelő mennyiségű friss, előmelegített tenyésztőközeggel, és számoljuk meg a sejteket, hogy információt kapjunk a sejtek életképességéről és számáról. Gyűjtse össze a sejteket 200xg-os centrifugálással 5 percig, és dobja ki a felülúszót. Szuszpendálja újra a sejteket megfelelő mennyiségű fagyasztó táptalajban, és számolja meg őket még egyszer. A sejtek életképességének  $>>80\%$ -nak kell lennie, a sejtsűrűségnek 5-10 millió sejt/ml-nek kell lennie. Pipettázza a sejteket előre címkézett kriovalákba. Használjon CoolCell fagyasztóedényt vagy szabályozott sebességű fagyasztót, hogy biztosítsa a  $1^\circ\text{C}/\text{perc}$  hűtési sebességet.

**Seeding density**  $5 \times 10^5$  sejt/ml

**Post-Thaw Recovery** Kezdje el a tenyésztést  $5 \times 10^5$  sejt/ml sűrűséggel, és tartsa a sejtkoncentrációt  $2-3 \times 10^6$  sejt/ml szinten az optimális növekedés érdekében. Inkubálja  $37^\circ\text{C}$ -on/ $5\% \text{CO}_2$ -koncentráció mellett, 100-150 rpm sebességű sejtrázógépen.

**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150^\circ\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37^\circ\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $200 \times \text{g}$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

## HEK293 szuszpenzióval adaptált | 300686

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, párasított légkör.

**Flask Coating** Nincs

**Freezing Procedure** A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping Conditions** A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage Conditions** Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

**Sterility** A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.