

**HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HEK293 przystosowana do hodowli w zawieszynie jest wariantem komórek ludzkiej embrionalnej nerki 293 (HEK293), które zostały zmodyfikowane tak, aby rosły w hodowli w zawieszynie, a nie w hodowli adherentnej. Adaptacja ta jest istotna dla zastosowań przemysłowych, w których wymagana jest produkcja białek na dużą skalę. Komórki zachowują wiele cech oryginalnej linii HEK293, w tym wysoką wydajność przejściowej transfekcji i zdolność do potranslacyjnej modyfikacji wyrażonych białek w sposób podobny do natywnych komórek ludzkich.

Komórki te są szczególnie cenione w przemyśle biotechnologicznym i farmaceutycznym do produkcji rekombinowanych białek i wirusów do terapii genowej i rozwoju szczepionek. Adaptacja do hodowli zawieszinowej pozwala na łatwiejszą skalowalność i upraszcza proces zbioru, dzięki czemu jest bardziej odpowiednia do bioprzetwarzania na skalę komercyjną. Linia komórkowa HEK293 przystosowana do hodowli w zawieszynie obsługuje różne systemy produkcji wirusów, w tym adenowirusy, lentiwirusy i adenowirusy (AAV), które mają kluczowe znaczenie w zastosowaniach terapeutycznych i badaniach.

Ogólnie rzecz biorąc, linia komórkowa HEK293 jest kluczowym narzędziem w dziedzinie biologii molekularnej i bioprzetwarzania, zapewniając wszechstronną platformę do produkcji różnych biologicznie aktywnych cząsteczek. Łatwość manipulacji genetycznej i zdolność do produkcji białek, które są prawidłowo składane i modyfikowane potranslacyjnie zgodnie z wzorcami ludzkich komórek, czynią ją niezbędnym zasobem w wielu zaawansowanych środowiskach terapeutycznych i badawczych.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Nerka

**Applications** Host transfekcji

**Charakterystyka**

**Age** Płód

**Gender** Kobieta

**Morphology** Okrągły

**Growth properties** Zawieszenie

**Dane regulacyjne**

**Citation** HEK293 dostosowany do zawiesiny (numer katalogowy Cytion 300686)

**HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0045**GMO Status** GMO-S1: Ta linia komórek HEK293 przystosowana do zawiesiny zawiera sekwencje E1 pochodzące z adenowirusa 5 z macierzystej linii HEK293, co zapewnia wysoką zdolność proliferacyjną i ekspresję białek. Modyfikacja jest stabilnie obecna w transformowanych komórkach nerkowych embrionów. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Receptors expressed** Witronektyna**Protein expression** CEA ujemny, p53 dodatni**Tumorigenic** U nagich myszy**Virus susceptibility** Transformowany adenowirusem 5 DNA adenowirus 5 DNA**Obsługa****Culture Medium** Panserin 293S (PanBiotech, Niemcy)**Supplements** Nie są wymagane żadne suplementy**Dissociation Reagent** Niewymagane

**HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686**

**Subculturing** Utrzymuj komórki w zawieszynie w gęstości od  $5 \times 10^5$  do  $2-3 \times 10^6$  komórek/ml w kolbach do hodowli komórek Eppendorf na wytrząsarce w inkubatorze w temperaturze  $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ . Po osiągnięciu gęstości komórek wynoszącej  $2-3 \times 10^6$  komórek/ml należy wykonać subkulturę. Ostrożnie usuwaj komórki, aby uniknąć tworzenia się skupisk. Po osiągnięciu gęstości komórek wynoszącej  $1-2 \times 10^6$  komórek/ml, zebrać komórki przez odwirowanie przy  $200 \times g$  przez 5 minut i odrzucić supernatant. Rozcieńczyć w odpowiedniej objętości świeżego, podgrzanego podłoża hodowlanego i policzyć komórki, aby uzyskać informacje na temat żywotności i liczby komórek. Zbierz komórki przez odwirowanie przy  $200 \times g$  przez 5 minut i odrzuć supernatant. Ponownie zawiesić komórki w odpowiedniej objętości pożywki do zamrażania i ponownie policzyć. Żywotność komórek powinna wynosić  $>>80\%$ , zalecana gęstość komórek to 5–10 milionów komórek/ml. Przenieść komórki pipetą do wstępnie oznaczonych probówek kriogenicznych. Użyć pojemnika do zamrażania CoolCell lub zamrażarki o kontrolowanej prędkości, aby zapewnić prędkość chłodzenia wynoszącą  $1^\circ\text{C}/\text{min}$ .

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

**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

**Post-Thaw Recovery** Rozpocznij hodowlę przy gęstości  $5 \times 10^5$  komórek/ml i utrzymuj stężenie komórek na poziomie  $2-3 \times 10^6$  komórek/ml, aby uzyskać optymalny wzrost. Inkubuj w temperaturze  $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$  na wytrząsarce komórkowej przy 100-150 obr./min.

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

**HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $200 \times g$  przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Shipping  
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## HEK293 dostosowany do zawiesiny | 300686

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 12,14  
**D16S539:** 9  
**D5S818:** 8,9  
**D7S820:** 11,12  
**TH01:** 7,9.3  
**TPOX:** 11  
**vWA:** 16,19  
**D3S1358:** 15,17  
**D21S11:** 28,30.2  
**D18S51:** 18  
**Penta E:** 7,15  
**Penta D:** 9,10  
**D8S1179:** 12,14  
**FGA:** 23