

HEK293, prilagojen suspenziji | 300686**Splošne informacije****Description**

Suspenzijsko prilagojena celična linija HEK293 je različica celic človeške embrionalne ledvice 293 (HEK293), ki je bila spremenjena tako, da raste v suspenzijski kulturi namesto v adherentni kulturi. Ta prilagoditev je pomembna za industrijske aplikacije, kjer je potrebna obsežna proizvodnja beljakovin. Celice ohranjajo številne značilnosti prvotne linije HEK293, vključno z visoko učinkovitostjo prehodne transfekcije in sposobnostjo posttranslacijskega spreminjanja izraženih beljakovin na podoben način kot pri izvornih človeških celicah.

Te celice so še posebej cenjene v biotehnološki in farmacevtski industriji za proizvodnjo rekombinantnih beljakovin in virusov za gensko terapijo in razvoj cepiv. Prilagoditev suspenzijski kulturi omogoča lažjo razširljivost in poenostavlja postopek pridobivanja, zaradi česar je primernejša za bioprocese v komercialnem obsegu. Celična linija HEK293, prilagojena suspenziji, podpira različne sisteme za proizvodnjo virusov, vključno z adenovirusom, lentivirusom in adeno-asociiranim virusom (AAV), ki so ključnega pomena za terapevtske aplikacije in raziskave.

Na splošno je celična linija HEK293, prilagojena na suspenzijo, ključno orodje na področju molekularne biologije in bioprocessinga, saj zagotavlja vsestransko platformo za proizvodnjo različnih biološko aktivnih molekul. Zaradi enostavne genetske manipulacije in sposobnosti proizvodnje proteinov, ki so pravilno zloženi in posttranslacijsko spremenjeni v skladu z vzorci človeških celic, je nepogrešljiv vir v številnih naprednih terapevtskih in raziskovalnih okoljih.

Organism Človek**Tissue** Ledvice**Applications** Gostitelj za transfekcijo**Značilnosti****Age** Plod**Gender** Ženske**Morphology** Okrogla stran**Growth properties** Vzmetenje**Regulativni podatki****Citation** HEK293, prilagojen na suspenzijo (kataloška številka Cytion 300686)**Biosafety level** 1

HEK293, prilagojen suspenziji | 300686**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0045**GMO Status** GMO-S1: Ta suspenzija prilagojena celična linija HEK293 vsebuje sekvence E1, pridobljene iz adenovirusa 5 iz starševske linije HEK293, ki podpirajo visoko sposobnost proliferacije in izražanja beljakovin. Modifikacija je stabilno prisotna v transformiranih embrionalnih ledvičnih celicah. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Receptors expressed** Vitronektin**Protein expression** CEA negativen, p53 pozitiven**Tumorigenic** Na golih miših**Virus susceptibility** Transformacija z adenovirusom 5 DNK adenovirus 5 DNK**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Panserin 293S (PanBiotech, Nemčija)**Supplements** Dodatki niso potrebni**Dissociation Reagent** Ni potrebno**Subculturing** Vzdržujte suspenzijske celice pri gostoti med 5×10^5 in $2-3 \times 10^6$ celic/ml v Eppendorfovih kolbah za celično kulturo na stresalniku v inkubatorju pri $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Ko gostota celic doseže $2-3 \times 10^6$ celic/ml, opravite subkulturo. Celice previdno odstranite, da se ne tvorijo skupki. Ko je gostota celic $1-2 \times 10^6$ celic/ml, celice zberite s centrifugiranjem pri 200xg 5 minut in zavržite supernatant. Razredčite v ustrezni količini svežega, predhodno ogretega kultivnega medija in preštajte celice, da dobite informacije o vitalnosti in številu celic. Zberite celice s centrifugiranjem pri 200xg za 5 minut in zavržite supernatant. Ponovno suspendirajte celice v ustrezni količini zamrzovalnega medija in jih ponovno preštajte. Življenskost celic mora biti $\gg 80\%$, priporočena gostota celic je 5–10 milijonov celic/ml. Celice s pipeto prenesite v vnaprej označene krioviale. Uporabite zamrzovalni kontejner CoolCell ali zamrzovalnik z nadzorovano hitrostjo, da zagotovite hitrost hlajenja $1^\circ\text{C}/\text{min}$.

HEK293, prilagojen suspenziji | 300686

Seeding density 5 x 10⁵ celic/ml

Post-Thaw Recovery Za optimalno rast začnite kultiviranje pri gostoti 5 x 10⁵ celic/ml in ohranite koncentracijo celic do 2-3 x 10⁶ celic/ml. Inkubirajte pri 37 °C/5 % CO₂ na stresalniku celic pri 100-150 vrtljajih na minuto.

Freeze medium Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 200 x g 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavržite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, vlažno ozračje.

Flask Coating Nič

Freezing Procedure Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HEK293, prilagojen suspenziji | 300686

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.