

HEK293 suspensjonstilpasset | 300686

Generell informasjon

Description

Den suspensjonstilpassede cellelinjen HEK293 er en variant av de humane embryonale nyrecellene 293 (HEK293) som er modifisert til å vokse i suspensjonskultur i stedet for i adherent kultur. Denne tilpasningen er viktig for industrielle anvendelser der det er behov for proteinproduksjon i stor skala. Cellene har beholdt mange av egenskapene til den opprinnelige HEK293-linjen, blant annet en robust transient transfeksjonseffektivitet og evnen til å posttranslasjonelt modifisere uttrykte proteiner på en måte som ligner den man finner i opprinnelige humane celler.

Disse cellene er spesielt verdsatt i bioteknologi- og farmasøytisk industri for produksjon av rekombinante proteiner og virus til genterapi og vaksineutvikling. Tilpasningen til suspensjonskultur gjør det lettere å skalere og forenkler høstingsprosessen, noe som gjør den mer egnet for bioprosessering i kommersiell skala. Den suspensjonstilpassede cellelinjen HEK293 støtter ulike virale produksjonssystemer, inkludert adenovirus, lentivirus og adenoassosiert virus (AAV), som er sentrale i terapeutiske anvendelser og forskning.

HEK293-suspensjonscellelinjen er et viktig verktøy innen molekylærbiologi og bioprosessering, og den utgjør en allsidig plattform for produksjon av ulike biologisk aktive molekyler. Den enkle genetiske manipuleringen og evnen til å produsere proteiner som er korrekt foldet og posttranslasjonelt modifisert i henhold til humane cellemønstre, gjør den til en uunnværlig ressurs i mange avanserte behandlings- og forskningsmiljøer.

Organism

Menneskelig

Tissue

Nyre

Applications

Vert for transfeksjon

Kjennetegn

Age

Foster

Gender

Kvinne

Morphology

Rund

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data

Citation

HEK293 suspensjonstilpasset (Cytion katalognummer 300686)

Biosafety level

1

HEK293 suspensjonstilpasset | 300686

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0045

GMO Status GMO-S1: Denne suspensjonstilpassede HEK293-cellelinjen inneholder adenovirus 5-avledede E1-sekvenser fra den opprinnelige HEK293-linjen, som støtter høy proliferativ og proteinekspressjonskapasitet. Modifikasjonen er stabilt til stede i transformerte embryonale nyreceller. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed Vitronektin**Protein expression** CEA-negativ, p53-positiv**Tumorigenic** I nakne mus**Virus susceptibility** Transformert med adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA

Håndtering

Culture Medium Panserin 293S (PanBiotech, Tyskland)**Supplements** Ingen kosttilskudd nødvendig**Dissociation Reagent** Ikke nødvendig

Subculturing Oppretthold suspensjonscellene ved en celletetthet mellom 5×10^5 og $2-3 \times 10^6$ celler/ml i Eppendorf-cellekulturflasker på en rister i en inkubator ved $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Subkultur når celletettheten har nådd $2-3 \times 10^6$ celler/ml. Fjern cellene forsiktig for å unngå klumper. Når celletettheten på $1-2 \times 10^6$ celler/ml er oppnådd, samle cellene ved å sentrifugere ved 200xg i 5 minutter og kast supernatanten. Fortynn i et passende volum ferskt, forvarmet dyrkningsmedium og tell cellene for å få informasjon om levedyktigheten og antall celler. Samle cellene ved å sentrifugere ved 200 x g i 5 minutter og kast supernatanten. Resuspender cellene i et passende volum frysemedium og tell dem igjen. Cellelevbarheten bør være $>>80\%$, og en celletetthet på 5–10 millioner celler/ml anbefales. Pipetter cellene inn i forhåndsmerkede kryorør. Bruk enten CoolCell-frysebeholder eller en fryser med kontrollert hastighet for å sikre en avkjølingshastighet på $1^\circ\text{C}/\text{min}$.

HEK293 suspensjonstilpasset | 300686

Seeding density 5 x 10⁵ celler/ml

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Start kulturer med en tetthet på 5 x 10⁵ celler/ml og hold cellekonsentrasjonen oppe på 2-3 x 10⁶ celler/ml for optimal vekst. Inkuber ved 37 °C/5 % CO₂ på en celle-shaker ved 100-150 rpm.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter opptining.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig.
7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery

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

Flask Coating For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

HEK293 suspensjonstilpasset | 300686**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellerlinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellerlinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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