Product sheet

Buňky HEK293 | 300192

Obecné informace

Description	Buněčná linie HEK293, imortalizovaná epiteliální buněčná linie odvozená v 70. letech minulého století Alexem van der Ebem z Utrechtské univerzity z lidských embryonálních ledvinových buněk, se díky své pozoruhodné univerzálnosti a snadné genetické manipulaci stala klíčovým experimentálním modelem v molekulární biologii a biotechnologických aplikacích. Transformace buněčné linie HEK293 zahrnovala integraci specifického úseku DNA adenoviru 5, který do buněčného genomu vložil adenovirové geny E1A a E1B. Modifikace adenovirové DNA umožnila schopnost buněčných linií účinně přijímat cizí DNA, což je vlastnost známá jako vysoká účinnost transfekce. Integrace virové DNA do genomu buněk HEK293 vedla k buněčné imortalizaci a významně zvýšila využitelnost těchto buněk v biotechnologických aplikacích tím, že usnadnila stabilní inkorporaci a expresi exogenní DNA, což je proces označovaný jako stabilní transfekce. Tato schopnost umožňuje trvalou přítomnost a funkci cizích genů v buňkách, což z HEK293 činí neocenitelný nástroj pro genetické studie a biotechnologie. V důsledku toho se buňky HEK293 staly základním zdrojem v biotechnologiích pro výrobu rekombinantních proteinů, včetně životně důležitých terapeutických proteinů, a slouží jako robustní hostitelské buňky pro tvorbu virových vektorů, zejména adenovirových a lentivirových vektorů. Buňky HEK 293 jsou klíčové ve farmaceutickém průmyslu pro vysoce výkonné screeningové testy, výrobu genových terapií zaměřených na specifické geny související s poruchami jednoho genu a studie adenovirové infekce. V průmyslové biotechnologii se využití lidské buněčné linie HEK 293 rozšiřuje na výrobu rekombinantních enzymů, výrobu virových vektorů, jako jsou adenovirové vektory, výrobu proteinů a vývoj biosenzorů. Toxikologický výzkum využívá buněčné linie HEK při hodnocení dopadů chemických látek na buněčnou biologii, včetně účinků na typické ledvinové buňky a potenciálu pro genové terapie. Schopnost nesmrtelné buněčné linie HEK293 účinně produkovat nativní proteiny zdůrazňuje její zásadní roli v lékařském výzkumu, včetně výzkumu rakoviny a zkoumání základů genové terapie. Buňky HEK293 nabízejí jedinečnou platformu pro studium buněčné biologie a proteinů, které jsou předmětem zájmu, a předčí ostatní buněčné linie svou univerzálností a využitelností ve výzkumu i v průmyslu. Pro srovnání, buňky HEK293T, varianta HEK293, jsou modifikovány pro zvýšení účinnosti transfekce, buňky HEK293F jsou přizpůsobeny pro suspenzní kultury, aby usnadnily velkoplošnou produkci proteinů, a další savčí buněčné linie, jako jsou buňky Vero, odvozené z tkáně opičí ledviny, jsou využívány především při vývoji vakcín a studiích virů.
Organism	Člověk
Tissue	Ledviny
Applications	Transfekční hostitel
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Lidská embryonální ledvina 293

Charakteristika

Age	Plod

Buňky HEK293 | 300192

Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation	HEK293 (katalogové číslo Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie HEK293 odvozená z embryonálních ledvin obsahuje sekvence adenoviru-5 E1A/E1B v důsledku transformace, ale neuvolňuje infekční virus, což umožňuje vysokou proliferační schopnost. Modifikace je stabilně přítomna v embryonálních ledvinových buňkách. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA negativní, p53 pozitivní
Tumorigenic	U nahých myší
Virus susceptibility	Transformované pomocí adenovirusové 5 DNA adenovirusové 5 DNA
Ploidy status	30 % buněk HEK293 má hypotriploidní karyotyp se 64 modálními chromozomy. Vyšší ploidie byly zjištěny u 4,2 % buněk.

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

Buňky HEK293 | 300192

Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2 vytvoří konfluentní vrstvu přibližně za 4 dny.
Fluid renewal	2krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HEK293 | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
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 **D2S1338**: 19 **D19S433**: 18
Alely HLA	**A***: '03:01:01 **B***: '07:02:01 **C***: '07:02:01 **DRB1***: '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01 **DQB1***: '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01 **E**: '01:03:02