Product sheet

HEK293-celler | 300192

Generel information

Description	HEK293-cellelinjen, en udødelig epitelcellelinje, der stammer fra humane embryonale nyreceller i 1970'erne af Alex van der Eb ved universitetet i Utrecht, er blevet en central eksperimentel model inden for molekylærbiologi og bioteknologiske anvendelser på grund af dens bemærkelsesværdige alsidighed og lette genetiske manipulation. Transformationen af HEK293-cellelinjen involverede integrationen af et specifikt segment fra Adenovirus 5-DNA, der indlejrede de adenovirale E1A- og E1B-gener i det cellulære genom. Den adenovirale DNA-modifikation muliggjorde cellelinjernes evne til at optage fremmed DNA effektivt, en funktion, der er kendt som høj transfektionseffektivitet. Integrationen af viralt DNA i HEK293-cellegenomet resulterede i cellulær udødelighed og forbedrede disse cellers anvendelighed i bioteknologiske applikationer betydeligt ved at lette den stabile inkorporering og ekspression af eksogent DNA, en proces, der kaldes stabil transfektion. Denne evne giver mulighed for vedvarende tilstedeværelse og funktion af fremmede gener i cellerne, hvilket gør HEK293 til et uvurderligt værktøj til genetiske studier og bioteknologi. Derfor er HEK293-celler blevet en grundlæggende ressource inden for bioteknologi til produktion af rekombinante proteiner, herunder vitale terapeutiske proteiner, og de fungerer som robuste værtsceller til generering af virale vektorer, især adenovirale og lentivirale vektorer. HEK 293-celler er centrale i den farmaceutiske industri til højtydende screeningsanalyser, fremstilling af genterapier rettet mod specifikke gener i forbindelse med enkeltgenforstyrrelser og adenovirale infektionsstudier. Inden for industriel bioteknologi anvendes den humane cellelinje HEK293 til rekombinant enzymproduktion, produktion af virale vektorer, f.eks. adenovirale vektorer, proteinproduktion og udvikling af biosensorer. Toksikologisk forskning drager fordel af anvendelsen af HEK-cellelinjen til at vurdere kemikaliers indvirkning på cellebiologien, herunder virkningerne på typiske nyreceller og potentialet for genterapi. Den udødelige cellelinje HEK293's evne til effektivt at producere native proteiner fremhæver deres vigtige rolle i medicinsk forskning, herunder kræftforskning og udforskning af grundlaget for genterapi. HEK293-celler er en unik platform til at studere cellebiologi og interessante proteiner, og de overgår andre cellelinjer i alsidighed og anvendelighed i både forskning og industri. Til sammenligning er HEK293T-celler, en variant af HEK293, modificeret for at forbedre transfektionseffektiviteten, HEK293F-celler er tilpasset til suspensionskultur for at lette proteinproduktion i stor skala, og andre pattedyrcellelinjer som Vero-celler, der stammer fra abenyrevæv, bruges primært til vaccineudvikling og virusundersøgelser.
Organism	Menneske
Tissue	Nyre
Applications	Vært for transfektion
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293

Karakteristika

Age	Foster

HEK293-celler | 300192

Gender	Kvinde
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation	HEK293 (Cytion katalognummer 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Denne HEK293-cellekultur, der stammer fra embryonale nyreceller, indeholder adenovirus-5 E1A/E1B-sekvenser som følge af transformation, men frigiver ikke smitsomme vira, hvilket muliggør en høj proliferativ kapacitet. Modifikationen er stabilt til stede i embryonale nyreceller. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA-negativ, p53-positiv
Tumorigenic	I nøgne mus
Virus susceptibility	Transformeret med adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA
Ploidy status	30 % af HEK293-cellerne har hypotriploide karyotyper med 64 modale kromosomer. Højere ploidier blev fundet i 4,2 % af cellerne.

Håndtering

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

HEK293-celler | 300192

Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2 vil danne et sammenhængende lag på ca. 4 dage.
Fluid renewal	2 gange om ugen
Post-Thaw Recovery	Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10^4 celler/cm^2, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.
HLA-alleler	**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