Product sheet

HEK293-Zellen | 300192

Allgemeine Informationen

Description	Die HEK293-Zelllinie, eine immortalisierte Epithelzelllinie, die in den 1970er Jahren von Alex van der Eb an der Universität Utrecht aus menschlichen embryonalen Nierenzellen abgeleitet wurde, ist aufgrund ihrer bemerkenswerten Vielseitigkeit und leichten genetischen Manipulierbarkeit zu einem zentralen Versuchsmodell in der Molekularbiologie und für biotechnologische Anwendungen geworden. Die Transformation der HEK293-Zelllinie erfolgte durch die Integration eines spezifischen Abschnitts der Adenovirus-5-DNA, der die adenoviralen Gene E1A und E1B in das zelluläre Genom einbettete. Die adenovirale DNA-Modifikation ermöglichte es den Zelllinien, fremde DNA effizient aufzunehmen, eine Eigenschaft, die als hohe Transfektionseffizienz bekannt ist. Die Integration der viralen DNA in das HEK293-Zellgenom führte zu einer zellulären Immortalisierung und verbesserte den Nutzen dieser Zellen für biotechnologische Anwendungen erheblich, indem sie den stabilen Einbau und die Expression von exogener DNA erleichterte, ein Prozess, der als stabile Transfektion bezeichnet wird. Diese Fähigkeit ermöglicht das dauerhafte Vorhandensein und die Funktion von Fremdgenen in den Zellen und macht HEK293 zu einem unschätzbaren Werkzeug für genetische Studien und Biotechnologie. Infolgedessen sind HEK293-Zellen zu einer grundlegenden Ressource in der Biotechnologie für die Herstellung rekombinanter Proteine, einschließlich lebenswichtiger therapeutischer Proteine, geworden und dienen als robuste Wirtszellen für die Herstellung viraler Vektoren, insbesondere adenoviraler und lentiviraler Vektoren. HEK 293-Zellen sind in der pharmazeutischen Industrie von zentraler Bedeutung für Hochdurchsatz-Screening-Assays, die Herstellung von Gentherapien, die auf spezifische Gene im Zusammenhang mit Einzelgenerkrankungen abzielen, und für Studien zur Adenovirusinfektion. In der industriellen Biotechnologie erstreckt sich der Nutzen der menschlichen Zelllinie HEK293 auf die Produktion rekombinanter Enzyme, die Herstellung viraler Vektoren, wie z. B. adenoviraler Vektoren, die Proteinproduktion und die Entwicklung von Biosensoren. Die Toxikologieforschung profitiert von der Anwendung der HEK-Zelllinie bei der Bewertung der Auswirkungen von Chemikalien auf die Zellbiologie, einschließlich der Auswirkungen auf typische Nierenzellen und des Potenzials für Gentherapien. Die Fähigkeit der unsterblichen Zelllinie HEK293, effizient native Proteine zu produzieren, unterstreicht ihre wichtige Rolle in der medizinischen Forschung, einschließlich der Krebsforschung und der Erforschung der Grundlagen der Gentherapie. HEK293-Zellen bieten eine einzigartige Plattform für die Untersuchung der Zellbiologie und von Proteinen, die von Interesse sind, und übertreffen andere Zelllinien in Bezug auf Vielseitigkeit und Nützlichkeit sowohl in der Forschung als auch bei industriellen Anwendungen. Im Vergleich dazu werden HEK293T-Zellen, eine Variante von HEK293, modifiziert, um die Transfektionseffizienz zu verbessern, HEK293F-Zellen werden für Suspensionskulturen angepasst, um die Proteinproduktion in großem Maßstab zu erleichtern, und andere Säugetierzelllinien wie Vero-Zellen, die aus Affennierengewebe gewonnen werden, werden hauptsächlich für die Entwicklung von Impfstoffen und virale Studien verwendet.
Organism	Menschen
Tissue	Niere
Applications	Transfektionswirt
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293

HEK293-Zellen | 300192

Merkmale

Age	Fötus
Gender	Weiblich
Morphology	Epithelähnlich
Growth properties	Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

Citation	HEK293 (Cytion Katalognummer 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Diese aus embryonalen Nierenzellen gewonnene HEK293-Zelllinie enthält aufgrund einer Transformation Adenovirus-5-E1A/E1B-Sequenzen, setzt jedoch keine infektiösen Viren frei, wodurch eine hohe Proliferationsfähigkeit ermöglicht wird. Die Modifikation ist in embryonalen Nierenzellen stabil vorhanden. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA negativ, p53 positiv
Tumorigenic	In Nacktmäusen
Virus susceptibility	Transformiert mit Adenovirus 5 DNA Adenovirus 5 DNA
Ploidy status	30 % der HEK293-Zellen haben einen hypotriploiden Karyotyp mit 64 modalen Chromosomen. Höhere Ploidien wurden bei 4,2 % der Zellen gefunden.

HEK293-Zellen | 300192

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 Stunden
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4
Seeding density	1 x 10^4 Zellen/cm^2 ergeben in etwa 4 Tagen eine konfluente Schicht.
Fluid renewal	2 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5 x 10^4 Zellen/cm^2 ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhärieren lassen.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HEK293-Zellen | 300192

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
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 **D2S1338**: 19 **D19S433**: 18
HLA-Allele	**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