Product sheet

Κύτταρα HEK293 | 300192

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HEK293, μια αθάνατη σειρά επιθηλιακών κυττάρων που προήλθε από ανθρώπινα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα τη δεκαετία του 1970 από τον Alex van der Eb στο Πανεπιστήμιο της Ουτρέχτης, έχει γίνει ένα βασικό πειραματικό μοντέλο στη μοριακή βιολογία και τις βιοτεχνολογικές εφαρμογές λόγω της αξιοσημείωτης ευελιξίας της και της ευκολίας γενετικής χειραγώγησης. Ο μετασχηματισμός της κυτταρικής σειράς HEK293 περιλάμβανε την ενσωμάτωση ενός συγκεκριμένου τμήματος από το DNA του αδενοϊού 5, ενσωματώνοντας τα γονίδια E1A και E1B του αδενοϊού στο κυτταρικό γονιδίωμα. Η τροποποίηση του DNA του αδενοϊού επέτρεψε την ικανότητα των κυτταρικών σειρών να προσλαμβάνουν αποτελεσματικά ξένο DNA, ένα χαρακτηριστικό γνωστό ως υψηλή αποτελεσματικότητα διαμόλυνσης. Η ενσωμάτωση του ιικού DNA στο γονιδίωμα των κυττάρων HEK293 είχε ως αποτέλεσμα την κυτταρική αθανασία και ενίσχυσε σημαντικά τη χρησιμότητα αυτών των κυττάρων σε βιοτεχνολογικές εφαρμογές, διευκολύνοντας τη σταθερή ενσωμάτωση και έκφραση εξωγενούς DNA, μια διαδικασία που ονομάζεται σταθερή διαμόλυνση. Η ικανότητα αυτή επιτρέπει τη μόνιμη παρουσία και λειτουργία ξένων γονιδίων εντός των κυττάρων, καθιστώντας το HEK293 ένα ανεκτίμητο εργαλείο για γενετικές μελέτες και βιοτεχνολογία. Ως αποτέλεσμα, τα κύτταρα HEK293 έχουν γίνει θεμελιώδης πόρος στη βιοτεχνολογία για την παραγωγή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων ζωτικών θεραπευτικών πρωτεϊνών, και χρησιμεύουν ως ισχυρά κύτταρα ξενιστές για τη δημιουργία ιικών φορέων, ιδίως αδενοϊικών και λεντιϊικών φορέων. Τα κύτταρα HEK 293 είναι ζωτικής σημασίας στη φαρμακοβιομηχανία για δοκιμασίες διαλογής υψηλής απόδοσης, για την παρασκευή γονιδιακών θεραπειών που στοχεύουν σε συγκεκριμένα γονίδια που σχετίζονται με διαταραχές ενός γονιδίου και για μελέτες μόλυνσης από αδενοϊό. Στη βιομηχανική βιοτεχνολογία, η χρησιμότητα της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς HEK293 επεκτείνεται στην παραγωγή ανασυνδυασμένων ενζύμων, στην παραγωγή ιικών φορέων, όπως οι αδενοϊικοί φορείς, στην παραγωγή πρωτεϊνών και στην ανάπτυξη βιοαισθητήρων. Η τοξικολογική έρευνα επωφελείται από την εφαρμογή της κυτταρικής σειράς HEK στην αξιολόγηση των επιπτώσεων των χημικών ουσιών στην κυτταρική βιολογία, συμπεριλαμβανομένων των επιπτώσεων στα τυπικά νεφρικά κύτταρα και των δυνατοτήτων για γονιδιακές θεραπείες. Η ικανότητα της αθάνατης κυτταρικής σειράς HEK293 να παράγει αποτελεσματικά εγγενείς πρωτεΐνες αναδεικνύει τον ουσιαστικό ρόλο της στην ιατρική έρευνα, συμπεριλαμβανομένης της έρευνας για τον καρκίνο και της διερεύνησης των βάσεων της γονιδιακής θεραπείας. Τα κύτταρα HEK293 προσφέρουν μια μοναδική πλατφόρμα για τη μελέτη της κυτταρικής βιολογίας και των πρωτεϊνών ενδιαφέροντος, ξεπερνώντας άλλες κυτταρικές σειρές σε ευελιξία και χρησιμότητα τόσο σε ερευνητικές όσο και σε βιομηχανικές εφαρμογές. Συγκριτικά, τα κύτταρα HEK293T, μια παραλλαγή του HEK293, τροποποιούνται για να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα της διαμόλυνσης, τα κύτταρα HEK293F προσαρμόζονται για καλλιέργεια εναιωρήματος για να διευκολύνουν την παραγωγή πρωτεϊνών μεγάλης κλίμακας, και άλλες κυτταρικές σειρές θηλαστικών, όπως τα κύτταρα Vero, που προέρχονται από νεφρικό ιστό πιθήκου, χρησιμοποιούνται κυρίως στην ανάπτυξη εμβολίων και σε μελέτες ιών.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Applications	Ξενιστής διαμόλυνσης

Product sheet

Κύτταρα HEK293 | 300192

Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Ανθρώπινο εμβρυϊκό νεφρό 293

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HEK293 (αριθμός καταλόγου Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά HEK293 που προέρχεται από εμβρυϊκούς νεφρούς περιέχει αλληλουχίες αδενοϊού-5 E1A/E1B λόγω μετασχηματισμού, αλλά δεν απελευθερώνει μολυσματικό ιό, επιτρέποντας υψηλή πολλαπλασιαστική ικανότητα. Η τροποποίηση είναι σταθερά παρούσα στα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και μπορεί να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Βιτρονεκτίνη
Protein expression	CEA αρνητικό, p53 θετικό
Tumorigenic	Σε γυμνά ποντίκια
Virus susceptibility	Μετασχηματισμένο με DNA αδενοϊού 5 DNA αδενοϊού 5

Κύτταρα HEK293 | 300192

Ploidy status	το 30% των κυττάρων HEK293 έχουν υποτριπλοειδείς καρυότυπους με 64 modal χρωμοσώματα. Υψηλότεροι πλουδισμοί βρέθηκαν στο 4,2% των κυττάρων.

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2 θα αποδώσουν ένα συρρέον στρώμα σε περίπου 4 ημέρες.
Fluid renewal	2 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HEK293 | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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