Product sheet

HEK293 rakud | 300192

Üldine teave

Description	HEK293 rakuliin, mis on inimese embrüonaalsetest neerurakkudest 1970ndatel aastatel Alex van der Eb'i poolt Utrechti ülikoolis saadud immortaliseeritud epiteelirakuliin, on tänu oma märkimisväärsele mitmekülgsusele ja geneetilise manipuleeritavuse lihtsusele muutunud molekulaarbioloogia ja biotehnoloogiliste rakenduste võtmetähtsusega katsemudeliks. HEK293 rakuliini transformatsioon hõlmas Adenoviiruse 5 DNA spetsiifilise segmendi integreerimist, millega adenoviiruse E1A ja E1B geenid integreeriti raku genoomi. Adenoviiruse DNA muutmine võimaldas rakuliinidel tõhusalt vastu võtta võõrast DNAd, mida nimetatakse suureks transfektsioonitõhususeks. Viirusliku DNA integreerimine HEK293 rakkude genoomi tõi kaasa rakkude immortaliseerimise ja suurendas oluliselt nende rakkude kasutatavust biotehnoloogilistes rakendustes, hõlbustades eksogeense DNA stabiilset inkorporeerimist ja ekspressiooni, mida nimetatakse stabiilseks transfektsiooniks. See võime võimaldab võõraste geenide püsivat olemasolu ja toimimist rakkudes, muutes HEK293 hindamatuks vahendiks geneetilistes uuringutes ja biotehnoloogias. Selle tulemusena on HEK293 rakud muutunud biotehnoloogias põhiliseks ressursiks rekombinantsete valkude, sealhulgas elutähtsate terapeutiliste valkude tootmisel ning nad on stabiilse peremeesrakuna viirusvektorite, eelkõige adenoviirus- ja lentiviirusvektorite loomisel. HEK 293 rakud on farmaatsiatööstuses keskse tähtsusega kõrge läbilaskevõimega sõeluuringute tegemiseks, üksikute geenihäiretega seotud spetsiifilistele geenidele suunatud geeniteraapiate valmistamiseks ja adenoviirusinfektsiooni uuringuteks. Tööstuslikus biotehnoloogias ulatub inimese rakuliini HEK293 kasutatavus rekombinantse ensüümi tootmiseks, viirusvektorite, näiteks adenoviirusvektorite tootmiseks, valkude tootmiseks ja biosensorite väljatöötamiseks. Toksikoloogiauuringud saavad kasu HEK rakuliini kasutamisest kemikaalide mõju hindamisel rakubioloogiale, sealhulgas mõju tüüpilistele neerurakkudele ja geeniteraapia potentsiaali hindamisel. Immortaalse rakuliini HEK293 võime toota tõhusalt natiivseid valke rõhutab nende olulist rolli meditsiinilistes uuringutes, sealhulgas vähiuuringutes ja geeniteraapia aluste uurimisel. HEK293 rakud pakuvad ainulaadset platvormi rakubioloogia ja huvipakkuvate valkude uurimiseks, ületades teisi rakuliine mitmekülgsuse ja kasulikkuse poolest nii teadustöös kui ka tööstuslikes rakendustes. Võrdluseks, HEK293T rakud, mis on HEK293 variant, on modifitseeritud transfektsiooni tõhususe suurendamiseks, HEK293F rakud on kohandatud suspensioonikultuuriks, et hõlbustada suuremahulist valkude tootmist, ja teisi imetajate rakuliine, nagu Vero rakud, mis on saadud ahvi neerukoes, kasutatakse peamiselt vaktsiinide arendamiseks ja viiruste uuringutes.
Organism	Inimene
Tissue	Neerud
Applications	Transfektsiooni peremees
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293

Omadused

HEK293 rakud | 300192

Age	Loote
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation	HEK293 (Cytioni kataloginumber 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: See HEK293 embrüonaalsetest neerudest saadud rakuliin sisaldab transformatsiooni tõttu adenoviiruse-5 E1A/E1B järjestusi, kuid ei vabasta nakkavat viirust, võimaldades suurt proliferatiivset võimet. Modifikatsioon on embrüonaalsetes neerurakkudes stabiilselt olemas. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Vitronektiin
Protein expression	CEA negatiivne, p53 positiivne
Tumorigenic	Alasti hiirtel
Virus susceptibility	Transformeeritud adenoviiruse 5 DNAga adenoviiruse 5 DNAga
Ploidy status	30% HEK293 rakkudest on 64 modaalse kromosoomiga hüpotriploidse karyotüübiga. Kõrgemat ploidiaid leiti 4,2% rakkudest.

Töötlemine

HEK293 rakud | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 x 10^4 rakku/cm^2 moodustab umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.
Fluid renewal	2 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}$/cm^2 ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
HLA alleles	**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