

## 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 mitmekülgsele 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 geeniteraapia 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 mitmekülgse 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 neerukoest, 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

<b>Age</b>	Loote
<b>Gender</b>	Naised
<b>Morphology</b>	Epiteelilaadsed
<b>Growth properties</b>	Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	HEK293 (Cytioni katalooginumber 300192)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0045
<b>GMO Status</b>	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

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

## Töötlemine

## HEK293 rakud | 300192

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	30 tundi
<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudel 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.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup> moodustab umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.
<b>Fluid renewal</b>	2 korda nädalas
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega $5 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
<b>Freeze medium</b>	Krüsosäilitusvedelikusena 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.

## HEK293 rakud | 300192

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## HEK293 rakud | 300192

### 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 / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil 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