

HEK293-solut | 300192

Yleisiä tietoja

Description

HEK293-solulinjasta, joka on kuolematon epiteelisolulinja, jonka Alex van der Eb johdatti 1970-luvulla Utrechтин yliopistossa ihmisen alkion munuaissoluista, on tullut keskeinen kokeellinen malli molekyylibiologiassa ja bioteknologisissa sovelluksissa sen huomattavan monipuolisuuden ja geneettisen manipuloinnin helppouden vuoksi.

HEK293-solulinjan transformaatioon liittyy Adenovirus 5 -DNA:n tietyn segmentin integrointi, joka sulautti adenoviruksen E1A- ja E1B-geenit solujen genomiin. Adenoviruksen DNA-muutos mahdollisti solulinjojen kyvyn ottaa tehokkaasti vastaan vierasta DNA:ta, mikä tunnetaan nimellä korkea transfektiotehokkuus. Viruksen DNA:n integrointi HEK293-solujen genomiin johti solujen kuolemattomuuteen ja lisäsi merkittävästi näiden solujen käyttökelpoisuutta bioteknologisissa sovelluksissa helpottamalla eksogeenisen DNA:n vakaata sisällyttämistä ja ilmentymistä, prosessia, jota kutsutaan vakaaksi transfektioksi. Tämä kyky mahdollistaa vieraiden geenien pysyvän läsnäolon ja toiminnan soluissa, mikä tekee HEK293:sta korvaamattoman arvokkaan työkalun geneettisiin tutkimuksiin ja biotekniikkaan.

Tämän seurauksena HEK293-soluista on tullut biotekniikan perusresurssi rekombinanttiproteiinien, myös elintärkeiden terapeuttisten proteiinien, tuotannossa ja ne toimivat vankkoina isäntäsoluina virusvektoreiden, erityisesti adenovirus- ja lentivirusvektoreiden, tuottamisessa. HEK 293 -solut ovat keskeisiä lääketieteellisyydessä korkean läpimenon seulontamäärityksissä, yksittäisiin geenihäiriöihin liittyviin erityisiin geeneihin kohdistuvien geeniterapioiden valmistuksessa ja adenovirusinfektiotutkimuksissa.

Teollisessa bioteknologiassa ihmisen HEK293-solulinjan käyttöala ulottuu rekombinanttientsyymien tuotantoon, virusvektoreiden, kuten adenovirusvektoreiden, tuotantoon, proteiinien tuotantoon ja biosensoreiden kehittämiseen. Toksikologinen tutkimus hyötyy HEK-solulinjan käytöstä arvioitaessa kemikaalien vaikutuksia solubiologiaan, mukaan lukien vaikutukset tyypillisiin munuaissoluihin ja geeniterapioiden mahdollisuudet. Kuolemattoman HEK293-solulinjan kyky tuottaa tehokkaasti natiiviproteiineja korostaa sen keskeistä roolia lääketieteellisessä tutkimuksessa, kuten syöpätutkimuksessa ja geeniterapian perusteiden tutkimisessa.

HEK293-solut tarjoavat ainutlaatuisen alustan solubiologian ja kiinnostavien proteiinien tutkimiseen, ja ne ylittävät muut solulinjat monipuolisuudessaan ja käyttökelpoisuudessaan sekä tutkimuksessa että teollisissa sovelluksissa. Vertailun vuoksi HEK293T-soluja, HEK293:n muunnosta, muokataan transfektiotehokkuuden parantamiseksi, HEK293F-soluja mukautetaan suspensioviljelyä varten, jotta voidaan helpottaa laajamittaista proteiinien tuotantoa, ja muita nisäkässolulinjoja, kuten Vero-soluja, jotka on johdettu apinoiden munuaiskudoksesta, käytetään ensisijaisesti rokotteen kehittämiseen ja virustutkimuksissa.

Organism Ihminen

Tissue Munuaiset

Applications Transfektion isäntä

Synonyms Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, ihmisen alkion munuaisten 293

Ominaisuudet

HEK293-solut | 300192

Age	Sikiö
Gender	Nainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation	HEK293 (Cytionin luettelonumero 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Tämä HEK293-alkion munuaisista peräisin oleva solulinja sisältää adenovirus-5 E1A/E1B-sekvenssejä transformaation seurauksena, mutta ei vapauta tarttuvaa virusta, mikä mahdollistaa suuren proliferaatiokyvyn. Modifikaatio on stabiilisti läsnä alkion munuaisissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyyli tiedot

Receptors expressed	Vitronektiini
Protein expression	CEA negatiivinen, p53 positiivinen
Tumorigenic	Alastomilla hiirillä
Virus susceptibility	Muunnettu adenovirus 5 DNA:lla adenovirus 5 DNA:lla
Ploidy status	30 prosentilla HEK293-soluista on hypotriploidinen karyotyyppi, jossa on 64 modaalista kromosomia. Korkeampia ploidioita havaittiin 4,2 prosentilla soluista.

Käsittely

HEK293-solut | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	1×10^4 solua/cm ² tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 4 päivässä.
Fluid renewal	2 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm ² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HEK293-solut | 300192

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEK293-solut | 300192

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välvaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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