Product sheet

Cellules HEK293 | 300192

Informations générales

Description	La lignée cellulaire HEK293, une lignée cellulaire épithéliale immortalisée dérivée de cellules rénales embryonnaires humaines dans les années 1970 par Alex van der Eb à l'université d'Utrecht, est devenue un modèle expérimental essentiel en biologie moléculaire et dans les applications biotechnologiques en raison de sa remarquable polyvalence et de sa facilité de manipulation génétique. La transformation de la lignée cellulaire HEK293 implique l'intégration d'un segment spécifique de l'ADN de l'adénovirus 5, intégrant les gènes adénoviraux E1A et E1B dans le génome cellulaire. La modification de l'ADN adénoviral a permis aux lignées cellulaires d'absorber efficacement l'ADN étranger, une caractéristique connue sous le nom d'efficacité de transfection élevée. L'intégration de l'ADN viral dans le génome des cellules HEK293 a entraîné une immortalisation cellulaire et a considérablement amélioré l'utilité de ces cellules dans les applications biotechnologiques en facilitant l'incorporation et l'expression stables de l'ADN exogène, un processus appelé transfection stable. Cette capacité permet la présence persistante et la fonction de gènes étrangers dans les cellules, ce qui fait de HEK293 un outil inestimable pour les études génétiques et la biotechnologie. Par conséquent, les cellules HEK293 sont devenues une ressource fondamentale en biotechnologie pour la production de protéines recombinantes, y compris des protéines thérapeutiques vitales, et pour servir de cellules hôtes robustes pour la génération de vecteurs viraux, en particulier les vecteurs adénoviraux et lentiviraux. Les cellules HEK 293 sont essentielles dans l'industrie pharmaceutique pour les essais de criblage à haut débit, la fabrication de thérapies géniques ciblant des gènes spécifiques liés à des troubles monogéniques et les études d'infection adénovirale. En biotechnologie industrielle, l'utilité de la lignée cellulaire humaine HEK293 s'étend à la production d'enzymes recombinantes, à la production de vecteurs viraux, tels que les vecteurs adénoviraux, à la production de protéines et à la mise au point de biocapteurs. La recherche en toxicologie bénéficie de l'application de la lignée cellulaire HEK pour évaluer l'impact des produits chimiques sur la biologie cellulaire, y compris les effets sur les cellules rénales typiques et le potentiel des thérapies géniques. La capacité de la lignée cellulaire immortelle HEK293 à produire efficacement des protéines natives souligne son rôle essentiel dans la recherche médicale, y compris la recherche sur le cancer et l'exploration des fondements de la thérapie génique. Les cellules HEK293 offrent une plateforme unique pour l'étude de la biologie cellulaire et des protéines d'intérêt, surpassant les autres lignées cellulaires en termes de polyvalence et d'utilité, tant pour la recherche que pour les applications industrielles. En comparaison, les cellules HEK293T, une variante de HEK293, sont modifiées pour améliorer l'efficacité de la transfection, les cellules HEK293F sont adaptées à la culture en suspension pour faciliter la production de protéines à grande échelle, et d'autres lignées cellulaires de mammifères telles que les cellules Vero, dérivées de tissus de rein de singe, sont principalement utilisées pour le développement de vaccins et les études virales.
Organism	Humain
Tissue	Rein
Applications	Hôte de transfection
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, rein embryonnaire humain 293

Product sheet

Cellules HEK293 | 300192

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Femme
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation	HEK293 (numéro de catalogue Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1 : cette lignée cellulaire dérivée de reins embryonnaires HEK293 contient des séquences E1A/E1B d'adénovirus-5 en raison d'une transformation, mais ne libère pas de virus infectieux, ce qui lui confère une forte capacité prolifération. La modification est stable dans les cellules rénales embryonnaires. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Vitronectine
Protein expression	CEA négatif, p53 positif
Tumorigenic	Chez la souris nude
Virus susceptibility	Transformé avec l'ADN de l'adénovirus 5 ADN de l'adénovirus 5
Ploidy status	30% des cellules HEK293 ont des caryotypes hypotriploïdes avec 64 chromosomes modaux. Des ploïdies plus élevées ont été trouvées dans 4,2 % des cellules.

Cellules HEK293 | 300192

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO3, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 heures
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de 1:3 à 1:4 est recommandé
Seeding density	1 x 10^4 cellules/cm^2 donnera une couche confluente en environ 4 jours.
Fluid renewal	2 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à raison de 5 x 10^4 cellules/cm^2 et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules HEK293 | 300192

Thawing and Culturing Cells	1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport. 2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire. 3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace. 4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir. 5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement. 6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel. 7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules. 8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HEK293 | 300192

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.
Profil STR	**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
Allèles HLA	**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