Product sheet

HEK293 sejtek | 300192

Általános információk

Description	A HEK293 sejtvonal, egy immortalizált epitélsejtvonal, amelyet az 1970-es években Alex van der Eb az Utrechti Egyetemen emberi embrionális vesesejtekből nyert, figyelemre méltó sokoldalúsága és könnyű genetikai manipulálhatósága miatt a molekuláris biológia és a biotechnológiai alkalmazások kulcsfontosságú kísérleti modelljévé vált. A HEK293 sejtvonal transzformációja az Adenovírus 5 DNS egy specifikus szegmensének integrálásával történt, amely az adenovírus E1A és E1B génjeit ágyazta be a sejt genomjába. Az adenovírus DNS-módosítás lehetővé tette, hogy a sejtvonalak hatékonyan képesek legyenek idegen DNS-t felvenni, ami nagy transzfekciós hatékonyságnak nevezett tulajdonság. A vírus-DNS beépítése a HEK293 sejtek genomjába a sejtek immortalizációját eredményezte, és jelentősen növelte e sejtek hasznosságát biotechnológiai alkalmazásokban azáltal, hogy megkönnyítette az exogén DNS stabil beépülését és kifejeződését, amit stabil transzfekciónak nevezünk. Ez a képesség lehetővé teszi az idegen gének tartós jelenlétét és működését a sejtekben, ami a HEK293-at felbecsülhetetlen értékű eszközzé teszi a genetikai vizsgálatok és a biotechnológia számára. Ennek eredményeként a HEK293 sejtek a biotechnológia alapvető erőforrásává váltak a rekombináns fehérjék - köztük létfontosságú terápiás fehérjék - előállításában, valamint a vírusvektorok, különösen az adenovirális és lentivirális vektorok előállításához szükséges robusztus gazdasejtekké. A HEK 293 sejtek kulcsfontosságúak a gyógyszeriparban a nagy áteresztőképességű szűrővizsgálatokban, az egygénes rendellenességekkel kapcsolatos specifikus géneket célzó génterápiák előállításában és az adenovírus-fertőzéssel kapcsolatos vizsgálatokban. Az ipari biotechnológiában a HEK293 humán sejtvonal hasznossága kiterjed a rekombináns enzimek előállítására, a vírusvektorok, például adenovirális vektorok előállítására, a fehérje előállítására és a bioszenzorok fejlesztésére. A toxikológiai kutatásokban a HEK-sejtvonal alkalmazása előnyös a vegyi anyagok sejtbiológiára gyakorolt hatásainak értékelésében, beleértve a tipikus vesesejtekre gyakorolt hatásokat és a génterápiák lehetőségeit. A HEK293 halhatatlan sejtvonalnak a natív fehérjék hatékony előállítására való képessége kiemeli alapvető szerepét az orvosi kutatásban, beleértve a rákkutatást és a génterápia alapjainak feltárását. A HEK293 sejtek egyedülálló platformot kínálnak a sejtbiológia és az érdeklődésre számot tartó fehérjék tanulmányozásához, sokoldalúságban és hasznosságban felülmúlva más sejtvonalakat mind a kutatásban, mind az ipari alkalmazásokban. Ehhez képest a HEK293T sejteket, a HEK293 egyik változatát a transzfekciós hatékonyság növelése érdekében módosítják, a HEK293F sejteket szuszpenziós tenyésztésre adaptálják a nagyszabású fehérjeelőállítás megkönnyítése érdekében, és más emlős sejtvonalakat, például a majom veseszövetéből származó Vero sejteket elsősorban vakcinafejlesztésben és vírusos vizsgálatokban használják.
Organism	Emberi
Tissue	Vese
Applications	Transzfekciós gazdatest
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Emberi embrionális vese 293

Jellemzők

HEK293 sejtek | 300192

Age	Magzat
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation	HEK293 (Cytion katalógusszám: 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ez a HEK293 embrionális vese-eredetű sejtvonal transzformáció következtében adenovírus-5 E1A/E1B szekvenciákat tartalmaz, de nem bocsát ki fertőző vírust, ami nagy proliferációs kapacitást tesz lehetővé. A módosítás stabilan jelen van az embrionális vese sejtekben. Ez a besorolás csak Németországon belül érvényes, máshol eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA negatív, p53 pozitív
Tumorigenic	Meztelen egerekben
Virus susceptibility	Adenovírus 5 DNS-sel átalakítva adenovírus 5 DNS-sel
Ploidy status	a HEK293 sejtek 30%-a hipotriploid kariotípusú, 64 modális kromoszómával. A sejtek 4,2%-ában magasabb ploidia volt kimutatható.

A kezelése

HEK293 sejtek | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1 x 10^4 sejt/cm^2 körülbelül 4 nap alatt konfluens réteget képez.
Fluid renewal	hetente 2 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.

2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.

3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.

4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.

5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.

6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.

7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.

8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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