Product sheet

Cellule HEK293 | 300192

Informazioni generali

Description	La linea cellulare HEK293, una linea cellulare epiteliale immortalizzata derivata da cellule renali embrionali umane negli anni '70 da Alex van der Eb dell'Università di Utrecht, è diventata un modello sperimentale cardine nella biologia molecolare e nelle applicazioni biotecnologiche grazie alla sua notevole versatilità e facilità di manipolazione genetica. La trasformazione della linea cellulare HEK293 ha comportato l'integrazione di un segmento specifico del DNA di Adenovirus 5, incorporando i geni adenovirali E1A ed E1B all'interno del genoma cellulare. La modifica del DNA adenovirale ha permesso alle linee cellulari di assorbire in modo efficiente il DNA estraneo, una caratteristica nota come alta efficienza di trasfezione. L'integrazione del DNA virale nel genoma delle cellule HEK293 ha portato all'immortalizzazione cellulare e ha migliorato significativamente l'utilità di queste cellule nelle applicazioni biotecnologiche, facilitando l'incorporazione e l'espressione stabile del DNA esogeno, un processo definito trasfezione stabile. Questa capacità consente la presenza e la funzione persistente di geni estranei all'interno delle cellule, rendendo le HEK293 uno strumento prezioso per gli studi genetici e le biotecnologie. Di conseguenza, le cellule HEK293 sono diventate una risorsa fondamentale nelle biotecnologie per la produzione di proteine ricombinanti, comprese le proteine terapeutiche vitali, e come robuste cellule ospiti per la generazione di vettori virali, in particolare vettori adenovirali e lentivirali. Le cellule HEK 293 sono fondamentali nell'industria farmaceutica per i saggi di screening ad alto rendimento, per la produzione di terapie geniche mirate a geni specifici relativi a disturbi di un singolo gene e per gli studi sulle infezioni adenovirali. Nella biotecnologia industriale, l'utilità della linea cellulare umana HEK293 si estende alla produzione di enzimi ricombinanti, alla produzione di vettori virali, come i vettori adenovirali, alla produzione di proteine e allo sviluppo di biosensori. La ricerca tossicologica beneficia dell'applicazione della linea cellulare HEK per valutare l'impatto delle sostanze chimiche sulla biologia cellulare, compresi gli effetti sulle cellule renali tipiche e il potenziale per le terapie geniche. La capacità della linea cellulare immortale HEK293 di produrre in modo efficiente proteine native evidenzia il suo ruolo essenziale nella ricerca medica, compresa la ricerca sul cancro e l'esplorazione delle basi della terapia genica. Le cellule HEK293 offrono una piattaforma unica per lo studio della biologia cellulare e delle proteine di interesse, superando altre linee cellulari per versatilità e utilità sia nella ricerca che nelle applicazioni industriali. In confronto, le cellule HEK293T, una variante delle HEK293, sono modificate per migliorare l'efficienza di trasfezione, le cellule HEK293F sono adattate alla coltura in sospensione per facilitare la produzione di proteine su larga scala e altre linee cellulari di mammifero come le cellule Vero, derivate dal tessuto renale di scimmia, sono utilizzate principalmente nello sviluppo di vaccini e negli studi virali.
Organism	Umano
Tissue	Rene
Applications	Ospite di trasfezione
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Rene embrionale umano 293

Caratteristiche

Cellule HEK293 | 300192

Age	Feto
Gender	Donna
Morphology	Simile all'epitelio
Growth properties	Monostrato, aderente

Dati normativi

Citation	HEK293 (catalogo Cytion numero 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: questa linea cellulare derivata da rene embrionale HEK293 contiene sequenze adenovirus-5 E1A/E1B dovute alla trasformazione, ma non rilascia virus infettivi, consentendo un'elevata capacità proliferativa. La modifica è presente in modo stabile nelle cellule renali embrionali. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Vitronectina
Protein expression	CEA negativo, p53 positivo
Tumorigenic	In topi nudi
Virus susceptibility	Trasformato con adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA
Ploidy status	il 30% delle cellule HEK293 presenta cariotipi ipotriploidi con 64 cromosomi modali. Ploidie superiori sono state riscontrate nel 4,2% delle cellule.

Manipolazione

Cellule HEK293 | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4
Seeding density	1 x 10^4 cellule/cm^2 produrrà uno strato confluente in circa 4 giorni.
Fluid renewal	2 volte a settimana
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5 x 10^4 cellule/cm^2 e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HEK293 | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HEK293 | 300192

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo 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
Alleli 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