Product sheet

HEK293 ląstelės | 300192

Bendra informacija

Description	HEK293 ląstelių linija - nemortizuotų epitelio ląstelių linija, kurią XX a. aštuntajame dešimtmetyje iš žmogaus embrioninių inkstų ląstelių išvedė Utrechto universiteto mokslininkas Alexas van der Ebas - dėl savo nepaprasto universalumo ir paprastų genetinių manipuliacijų tapo pagrindiniu eksperimentiniu modeliu molekulinėje biologijoje ir biotechnologijose. Transformuojant HEK293 ląstelių liniją, į ląstelės genomą buvo integruotas specifinis adenoviruso 5 DNR segmentas, kuriame buvo įterpti adenoviruso E1A ir E1B genai. Adenovirusinės DNR modifikacija leido ląstelių linijoms efektyviai įsisavinti svetimą DNR, o tai vadinama dideliu transfekcijos efektyvumu. Virusinės DNR integravimas į HEK293 ląstelių genomą lėmė ląstelių nemortalizaciją ir gerokai padidino šių ląstelių naudingumą biotechnologijose, nes palengvino stabilų egzogeninės DNR inkorporavimą ir raišką - šis procesas vadinamas stabilia transfekcija. Ši savybė leidžia ląstelėse nuolat turėti ir veikti svetimus genus, todėl HEK293 tampa neįkainojama genetinių tyrimų ir biotechnologijų priemone. Todėl HEK293 ląstelės tapo pagrindiniu biotechnologijos šaltiniu rekombinantiniams baltymams, įskaitant gyvybiškai svarbius gydomuosius baltymus, gaminti ir yra patikimos ląstelės šeimininkės virusiniams vektoriams, ypač adenovirusiniams ir lentivirusiniams vektoriams, kurti. HEK 293 ląstelės yra labai svarbios farmacijos pramonėje atliekant didelio našumo atrankinius tyrimus, gaminant genų terapijas, skirtas konkretiems genams, susijusiems su pavienių genų sutrikimais, ir atliekant adenovirusinės infekcijos tyrimus. Pramoninėje biotechnologijoje žmogaus ląstelių linija HEK 293 naudojama rekombinantinių fermentų gamybai, virusinių vektorių, pavyzdžiui, adenovirusinių vektorių, gamybai, baltymų gamybai ir biojutiklių kūrimui. Toksikologiniams tyrimams HEK ląstelių linija naudinga vertinant cheminių medžiagų poveikį ląstelių biologijai, įskaitant poveikį tipiškoms inkstų ląstelėms ir genų terapijos galimybes. Nemirtingos ląstelių linijos HEK293 gebėjimas efektyviai gaminti vietinius baltymus pabrėžia jos svarbų vaidmenį medicininiuose tyrimuose, įskaitant vėžio tyrimus ir genų terapijos pagrindus. HEK293 ląstelės yra unikali ląstelių biologijos ir dominančių baltymų tyrimo platforma, pranokstanti kitas ląstelių linijas savo universalumu ir naudingumu tiek moksliniams tyrimams, tiek pramoniniam naudojimui. Palyginimui, HEK293T ląstelės, HEK293 variantas, yra modifikuojamos siekiant padidinti transfekcijos efektyvumą, HEK293F ląstelės yra pritaikytos suspensinėms kultūroms, kad būtų lengviau gaminti didelio masto baltymus, o kitos žinduolių ląstelių linijos, pavyzdžiui, Vero ląstelės, gautos iš beždžionių inkstų audinio, pirmiausia naudojamos vakcinų kūrimui ir virusų tyrimams.
Organism	Žmogus
Tissue	Inkstai
Applications	Transfekcijos šeimininkas
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 HEK, 293 Ad5, Žmogaus embrioninis inkstas 293

Charakteristikos

HEK293 ląstelės | 300192

Age	Vaisius
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	HEK293 (Cytion katalogo numeris 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ši HEK293 embrioninių inkstų kilmės ląstelių linija dėl transformacijos turi adenoviruso-5 E1A/E1B sekas, tačiau neišskiria infekcinių virusų, todėl pasižymi dideliu proliferacijos pajėgumu. Modifikacija yra stabiliai išlikusi embrioninių inkstų ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Vitronektinas
Protein expression	CEA neigiamas, p53 teigiamas
Tumorigenic	Su nuogomis pelėmis
Virus susceptibility	Transformuota su adenoviruso 5 DNR adenoviruso 5 DNR
Ploidy status	30 % HEK293 ląstelių turi hipotriploidinį kariotipą su 64 modalinėmis chromosomomis. Didesni ploidai nustatyti 4,2 % ląstelių.

Tvarkymas

HEK293 ląstelės | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 valandų
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2 per maždaug 4 dienas sudarys konfluentinį sluoksnį.
Fluid renewal	2 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HEK293 ląstelės | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HEK293 ląstelės | 300192

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
HLA aleliai	**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