**Product sheet**

# HEK293 šūnas | 300192

## Vispārīga informācija

| | |
|---|---|
| **Description** | HEK293 šūnu līnija - nemortalizēta epitēlija šūnu līnija, ko 70. gados no cilvēka embrionālajām nieru šūnām ieguva Alekss van der Ebs Utrehtas Universitātē, - ir kļuvusi par galveno eksperimentālo modeli molekulārajā bioloģijā un biotehnoloģijā, pateicoties tās ievērojamajai daudzpusībai un ģenētisko manipulāciju vienkāršībai.<br><br>HEK293 šūnu līnijas transformācija ietvēra īpaša segmenta integrēšanu no Adenovīrusa 5 DNS, iekļaujot adenovīrusa E1A un E1B gēnus šūnas genomā. Adenovīrusa DNS modifikācija ļāva šūnu līnijām efektīvi uzņemt svešu DNS, kas ir pazīstama kā augsta transfekcijas efektivitāte. Vīrusu DNS integrēšana HEK293 šūnu genomā izraisīja šūnu imortalizāciju un ievērojami uzlaboja šo šūnu izmantojamību biotehnoloģiskos lietojumos, veicinot stabilu eksogēnās DNS inkorporāciju un ekspresiju - procesu, ko dēvē par stabilu transfekciju. Šī spēja ļauj šūnās pastāvīgi uzturēt un darboties svešzemju gēniem, padarot HEK293 par nenovērtējamu līdzekli ģenētiskajiem pētījumiem un biotehnoloģijai.<br><br>Rezultātā HEK293 šūnas ir kļuvušas par biotehnoloģijas pamatresursiem rekombinantu proteīnu, tostarp svarīgu terapeitisko proteīnu, ražošanai un kalpo kā stabilas saimnieka šūnas vīrusu vektoru, jo īpaši adenovīrusu un lentivīrusu vektoru, ražošanai. HEK 293 šūnas ir ļoti svarīgas farmācijas rūpniecībā, veicot augstas veiktspējas skrīninga testus, gēnu terapijas, kas vērstas uz specifiskiem gēniem, kuri saistīti ar atsevišķu gēnu traucējumiem, un adenovīrusu infekcijas pētījumus.<br><br>Rūpnieciskajā biotehnoloģijā cilvēka šūnu līnijas HEK 293 lietderība attiecas arī uz rekombinantu enzīmu ražošanu, vīrusu vektoru, piemēram, adenovīrusu vektoru, ražošanu, proteīnu ražošanu un biosensoru izstrādi. Toksikoloģijas pētījumos HEK šūnu līniju izmanto, lai novērtētu ķīmisko vielu ietekmi uz šūnu bioloģiju, tostarp ietekmi uz tipiskām nieru šūnām un gēnu terapijas potenciālu. Nemirstīgās šūnu līnijas HEK293 spēja efektīvi ražot dabiskos proteīnus uzsver tās būtisko lomu medicīnas pētījumos, tostarp vēža pētījumos un gēnu terapijas pamatu izpētē.<br><br>HEK293 šūnas piedāvā unikālu platformu šūnu bioloģijas un interesējošo proteīnu pētniecībai, pārspējot citas šūnu līnijas ar savu daudzpusību un lietderību gan pētniecībā, gan rūpniecībā. Salīdzinājumam, HEK293T šūnas, HEK293 variants, ir modificētas, lai uzlabotu transfekcijas efektivitāti, HEK293F šūnas ir pielāgotas suspensijas kultūrām, lai atvieglotu liela apjoma proteīnu ražošanu, un citas zīdītāju šūnu līnijas, piemēram, Vero šūnas, kas iegūtas no pērtiķu nieru audiem, galvenokārt izmanto vakcīnu izstrādē un vīrusu pētījumos. |
| **Organism** | Cilvēks |
| **Tissue** | Nieres |
| **Applications** | Transfekcijas saimnieks |
| **Synonyms** | Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 HEK, 293 Ad5, Cilvēka embrionālās nieres 293 |

## Raksturojums

| | |
|---|---|
| **Age** | Auglis |
| **Gender** | Sievietes |

**Product sheet**

## HEK293 šūnas | 300192

| | |
|---|---|
| **Morphology** | Epitēlijveidīgs |
| **Growth properties** | Vienslāņa, adhēzija |

## Normatīvie dati

| | |
|---|---|
| **Citation** | HEK293 (Cytion kataloga numurs 300192) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_0045 |
| **GMO Status** | GMO-S1: Šī HEK293 embrija nieru izcelsmes šūnu līnija transformācijas rezultātā satur adenovīrusa-5 E1A/E1B sekvences, bet neizdala infekciozu vīrusu, nodrošinot augstu proliferatīvo spēju. Modifikācija ir stabili klātesoša embrija nieru šūnās. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties. |

## Biomolekulārie dati

| | |
|---|---|
| **Receptors expressed** | Vitronektīns |
| **Protein expression** | CEA negatīvs, p53 pozitīvs |
| **Tumorigenic** | Plikām pelēm |
| **Virus susceptibility** | Transformēta ar adenovīrusa 5 DNS adenovīrusa 5 DNS |
| **Ploidy status** | 30 % HEK293 šūnu ir hipotriploīds kariotips ar 64 modālām hromosomām. Augstāki ploidiji tika konstatēti 4,2 % šūnu. |

## Darbs ar

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a) |
| **Supplements** | Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA |

# HEK293 šūnas | 300192

| | |
|---|---|
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Doubling time** | 30 stundas |
| **Subculturing** | Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne. |
| **Seeding density** | 1 x $10^4$ šūnas/$cm^2$ veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā. |
| **Fluid renewal** | 2 reizes nedēļā |
| **Post-Thaw Recovery** | Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x $10^4$ šūnas/$cm^2$ un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas. |
| **Freeze medium** | Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu. |

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.<br>2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.<br>3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.<br>4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.<br>5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.<br>6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.<br>7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.<br>8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus. |
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra. |
| **Flask Coating** | Neviens |
| **Freezing Procedure** | Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu. |

## HEK293 šūnas | 300192

| | |
|---|---|
| **Shipping Conditions** | Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu. |
| **Storage Conditions** | Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli. |

## Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.<br><br>Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda. |
| **HLA alēles** | **A***: '03:01:01<br>**B***: '07:02:01<br>**C***: '07:02:01<br>**DRB1***: '15:01:01<br>**DQA1***: '01:02:01<br>**DQB1***: '06:02:01<br>**DPB1***: '04:01:01<br>**E**: '01:03:02 |