Product sheet

HEK293-cellen | 300192

Algemene informatie

Description	De HEK293 cellijn, een geïmmortaliseerde epitheelcellijn afgeleid van menselijke embryonale niercellen in de jaren 1970 door Alex van der Eb aan de Universiteit van Utrecht, is een centraal experimenteel model geworden in de moleculaire biologie en biotechnologische toepassingen vanwege de opmerkelijke veelzijdigheid en het gemak van genetische manipulatie. De transformatie van de HEK293 cellijn omvatte de integratie van een specifiek segment van Adenovirus 5 DNA, waardoor de adenovirale E1A en E1B genen in het celgenoom werden ingebed. Door de modificatie van het adenovirale DNA konden de cellijnen efficiënt vreemd DNA opnemen, een eigenschap die bekend staat als hoge transfectie-efficiëntie. De integratie van viraal DNA in het genoom van de HEK293-cel resulteerde in cellulaire immortalisatie en verbeterde de bruikbaarheid van deze cellen in biotechnologische toepassingen aanzienlijk door de stabiele opname en expressie van exogeen DNA te vergemakkelijken, een proces dat stabiele transfectie wordt genoemd. Dit vermogen maakt de persistente aanwezigheid en functie van vreemde genen in de cellen mogelijk, waardoor HEK293 een hulpmiddel van onschatbare waarde wordt voor genetische studies en biotechnologie. Als gevolg hiervan zijn HEK293 cellen een fundamenteel hulpmiddel geworden in de biotechnologie voor de productie van recombinante eiwitten, waaronder essentiële therapeutische eiwitten, en ze dienen als robuuste gastheercellen voor het genereren van virale vectoren, met name adenovirale en lentivirale vectoren. HEK 293 cellen zijn cruciaal in de farmaceutische industrie voor high-throughput screening assays, de productie van gentherapieën gericht op specifieke genen gerelateerd aan enkelvoudige genaandoeningen en adenovirale infectiestudies. In de industriële biotechnologie strekt het nut van de menselijke cellijn HEK293 zich uit tot de productie van recombinante enzymen, de productie van virale vectoren, zoals adenovirale vectoren, de productie van eiwitten en de ontwikkeling van biosensoren. Toxicologisch onderzoek profiteert van de toepassing van de HEK-cellijn bij het beoordelen van de effecten van chemicaliën op de celbiologie, inclusief de effecten op typische niercellen en de mogelijkheden voor gentherapieën. Het vermogen van de onsterfelijke cellijn HEK293 om efficiënt natieve eiwitten te produceren benadrukt hun essentiële rol in medisch onderzoek, inclusief kankeronderzoek en het verkennen van de fundamenten van gentherapie. HEK293 cellen bieden een uniek platform voor het bestuderen van celbiologie en eiwitten van belang, en overtreffen andere cellijnen in veelzijdigheid en bruikbaarheid in zowel onderzoek als industriële toepassingen. Ter vergelijking: HEK293T cellen, een variant van HEK293, zijn aangepast om de transfectie-efficiëntie te verbeteren, HEK293F cellen zijn aangepast voor suspensiekweek om eiwitproductie op grote schaal te vergemakkelijken en andere zoogdiercellijnen zoals Vero cellen, afgeleid van apennierweefsel, worden voornamelijk gebruikt voor de ontwikkeling van vaccins en virale studies.
Organism	Mens
Tissue	Nieren
Applications	Transfectiegastheer
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Menselijke embryonale nier 293

Product sheet

HEK293-cellen | 300192

Kenmerken

Age	Foetus
Gender	Vrouw
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation	HEK293 (Cytion catalogusnummer 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Deze uit embryonale nieren afkomstige HEK293-cellijn bevat adenovirus-5 E1A/E1B-sequenties als gevolg van transformatie, maar geeft geen besmettelijk virus vrij, waardoor een hoge proliferatieve capaciteit mogelijk is. De modificatie is stabiel aanwezig in embryonale niercellen. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders verschillen.

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed	Vitronectine
Protein expression	CEA negatief, p53 positief
Tumorigenic	In naakte muizen
Virus susceptibility	Getransformeerd met adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA
Ploidy status	30% van de HEK293 cellen hebben hypotriploïde karyotypes met 64 modale chromosomen. Hogere ploïdieën werden gevonden in 4,2% van de cellen.

HEK293-cellen | 300192

Omgaan met

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 uur
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen
Seeding density	1 x 10^4 cellen/cm^2 zal in ongeveer 4 dagen een confluente laag opleveren.
Fluid renewal	2 keer per week
Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5 x 10^4 c^{ellen}/cm^2 en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HEK293-cellen | 300192

Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**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
HLA-allelen	**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