Product sheet

HEK293-celler | 300192

Generell informasjon

Description	HEK293-cellelinjen, en udødelig epitelcellelinje som ble avledet fra humane embryonale nyreceller på 1970-tallet av Alex van der Eb ved universitetet i Utrecht, har blitt en sentral eksperimentell modell innen molekylærbiologi og bioteknologiske anvendelser på grunn av sin bemerkelsesverdige allsidighet og enkle genetiske manipulering. Transformasjonen av HEK293-cellelinjen involverte integrering av et spesifikt segment fra Adenovirus 5-DNA, der de adenovirale E1A- og E1B-genene ble integrert i cellens genom. Den adenovirale DNA-modifiseringen gjorde cellelinjene i stand til å ta opp fremmed DNA på en effektiv måte, noe som kalles høy transfeksjonseffektivitet. Integrasjonen av viralt DNA i HEK293-cellenes genom resulterte i udødeliggjøring av cellene, noe som i betydelig grad forbedret bruken av disse cellene i bioteknologiske anvendelser ved å legge til rette for stabil inkorporering og uttrykk av eksogent DNA, en prosess som kalles stabil transfeksjon. Denne egenskapen gjør det mulig å opprettholde tilstedeværelse og funksjon av fremmede gener i cellene, noe som gjør HEK293 til et uvurderlig verktøy for genetiske studier og bioteknologi. HEK293-celler har derfor blitt en grunnleggende ressurs innen bioteknologi for produksjon av rekombinante proteiner, inkludert viktige terapeutiske proteiner, og som robuste vertsceller for generering av virusvektorer, særlig adenovirale og lentivirale vektorer. HEK 293-celler er sentrale i legemiddelindustrien når det gjelder screeninganalyser med høy gjennomstrømning, produksjon av genterapier rettet mot spesifikke gener knyttet til enkeltgensykdommer og studier av adenoviral infeksjon. Innenfor industriell bioteknologi brukes den humane cellelinjen HEK293 også til produksjon av rekombinante enzymer, produksjon av virale vektorer, for eksempel adenovirale vektorer, proteinproduksjon og utvikling av biosensorer. Toksikologisk forskning drar nytte av HEK-cellelinjen når det gjelder å vurdere kjemikaliers innvirkning på cellebiologien, inkludert effekten på typiske nyreceller og potensialet for genterapier. Den udødelige cellelinjen HEK293s evne til effektivt å produsere native proteiner understreker cellelinjens viktige rolle i medisinsk forskning, inkludert kreftforskning og utforsking av grunnlaget for genterapi. HEK293-celler utgjør en unik plattform for studier av cellebiologi og proteiner av interesse, og overgår andre cellelinjer i allsidighet og anvendelighet i både forskning og industri. Til sammenligning er HEK293T-celler, en variant av HEK293, modifisert for å øke transfeksjonseffektiviteten, HEK293F-celler er tilpasset suspensjonskultur for å legge til rette for proteinproduksjon i stor skala, og andre pattedyrcellelinjer som Vero-celler, som stammer fra nyrevev fra aper, brukes primært til vaksineutvikling og virusstudier.
Organism	Menneskelig
Tissue	Nyre
Applications	Vert for transfeksjon
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293

Kjennetegn

Age	Foster

HEK293-celler | 300192

Gender	Kvinne
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation	HEK293 (Cytion katalognummer 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Denne HEK293-cellelinjen, som stammer fra embryonale nyreceller, inneholder adenovirus-5 E1A/E1B-sekvenser på grunn av transformasjon, men frigjør ikke smittsomt virus, noe som gir høy proliferativ kapasitet. Modifikasjonen er stabilt til stede i embryonale nyreceller. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA-negativ, p53-positiv
Tumorigenic	I nakne mus
Virus susceptibility	Transformert med adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA
Ploidy status	30 % av HEK293-cellene har hypotriploide karyotyper med 64 modale kromosomer. Høyere ploidier ble funnet i 4,2 % av cellene.

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO3, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)

HEK293-celler | 300192

Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2 vil gi et sammenvokst lag på omtrent 4 dager.
Fluid renewal	2 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10^4 celler/cm^2 og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

HEK293-celler | 300192

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
STR-profil	**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-alleler	**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