

Komórki HEK293 | 300192

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HEK293, nieśmiertelniona linia komórek nabłonkowych uzyskana z ludzkich embrionalnych komórek nerkowych w latach siedemdziesiątych XX wieku przez Alexa van der Eba na Uniwersytecie w Utrechcie, stała się kluczowym modelem eksperymentalnym w biologii molekularnej i zastosowaniach biotechnologicznych ze względu na jej niezwykłą wszechstronność i łatwość manipulacji genetycznych.

Transformacja linii komórkowej HEK293 polegała na integracji określonego segmentu DNA adenowirusa 5, osadzając geny adenowirusowe E1A i E1B w genomie komórkowym. Modyfikacja adenowirusowego DNA umożliwiła liniom komórkowym efektywne pobieranie obcego DNA, co znane jest jako wysoka wydajność transfekcji. Integracja wirusowego DNA z genomem komórek HEK293 spowodowała nieśmiertelnienie komórek i znacznie zwiększyła użyteczność tych komórek w zastosowaniach biotechnologicznych, ułatwiając stabilne włączenie i ekspresję egzogenego DNA, proces określany jako stabilna transfekcja. Zdolność ta pozwala na trwałą obecność i funkcjonowanie obcych genów w komórkach, czyniąc HEK293 nieocenionym narzędziem do badań genetycznych i biotechnologii.

W rezultacie komórki HEK293 stały się podstawowym zasobem w biotechnologii do produkcji rekombinowanych białek, w tym ważnych białek terapeutycznych, i służą jako solidne komórki gospodarza do generowania wektorów wirusowych, w szczególności wektorów adenowirusowych i lentiwirusowych. Komórki HEK 293 odgrywają kluczową rolę w przemyśle farmaceutycznym w wysokoprzepustowych testach przesiewowych, produkcji terapii genowych ukierunkowanych na określone geny związane z zaburzeniami pojedynczych genów oraz w badaniach infekcji adenowirusowych.

W biotechnologii przemysłowej użyteczność ludzkiej linii komórkowej HEK293 rozciąga się na produkcję enzymów rekombinowanych, produkcję wektorów wirusowych, takich jak wektory adenowirusowe, produkcję białek i rozwój biosensorów. Badania toksykologiczne czerpią korzyści z zastosowania linii komórkowej HEK w ocenie wpływu substancji chemicznych na biologię komórek, w tym wpływu na typowe komórki nerek i potencjału terapii genowych. Zdolność nieśmiertelnej linii komórkowej HEK293 do wydajnego wytwarzania natywnych białek podkreśla ich istotną rolę w badaniach medycznych, w tym w badaniach nad rakiem i odkrywaniu podstaw terapii genowej.

Komórki HEK293 oferują unikalną platformę do badania biologii komórek i interesujących białek, przewyższając inne linie komórkowe pod względem wszechstronności i użyteczności zarówno w badaniach, jak i zastosowaniach przemysłowych. Dla porównania, komórki HEK293T, wariant HEK293, są modyfikowane w celu zwiększenia wydajności transfekcji, komórki HEK293F są przystosowane do hodowli zawieszinowej w celu ułatwienia produkcji białek na dużą skalę, a inne linie komórkowe ssaków, takie jak komórki Vero, pochodzące z tkanki nerki małpy, są wykorzystywane głównie do opracowywania szczepionek i badań wirusologicznych.

Organism

Człowiek

Tissue

Nerka

Applications

Host transfekcji

Synonyms

Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293

Charakterystyka

Komórki HEK293 | 300192

Age	Płód
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation	HEK293 (numer katalogowy Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa pochodząca z embrionalnej nerki HEK293 zawiera sekwencje adenowirusa-5 E1A/E1B w wyniku transformacji, ale nie uwalnia zakaźnego wirusa, co umożliwia wysoką zdolność proliferacyjną. Modyfikacja jest stabilnie obecna w embrionalnych komórkach nerki. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Witronektyna
Protein expression	CEA ujemny, p53 dodatni
Tumorigenic	U nagich myszy
Virus susceptibility	Transformowany adenowirusem 5 DNA adenowirus 5 DNA
Ploidy status	30% komórek HEK293 ma kariotypy hipotriploidalne z 64 chromosomami modalnymi. Wyższe ploidie stwierdzono w 4,2% komórek.

Obsługa

Komórki HEK293 | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 godzin
Subculturing	Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4
Seeding density	1×10^4 komórek/cm ² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.
Fluid renewal	2 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HEK293 | 300192**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HEK293 | 300192**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil 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

Allele 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