Product sheet

Komórki HEK293 | 300192

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa HEK293, unieśmiertelniona 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 unieśmiertelnienie komórek i znacznie zwiększyła użyteczność tych komórek w zastosowaniach biotechnologicznych, ułatwiając stabilne włączenie i ekspresję egzogennego 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 zawiesinowej 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 NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 godzin
Subculturing	Usuń 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. Odrzucić 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 x 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 x 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 przepływowym, 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 x 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%$_{CO2}$, 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 fiolki 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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