Product sheet

Celule HEK293 | 300192

Informații generale

Description	Linia celulară HEK293, o linie celulară epitelială imortalizată derivată din celule embrionare de rinichi uman în anii 1970 de către Alex van der Eb de la Universitatea din Utrecht, a devenit un model experimental esențial în biologia moleculară și aplicațiile biotehnologice datorită versatilității sale remarcabile și ușurinței manipulării genetice. Transformarea liniei celulare HEK293 a implicat integrarea unui segment specific din ADN-ul adenovirusului 5, încorporând genele adenovirale E1A și E1B în genomul celular. Modificarea ADN-ului adenoviral a sporit capacitatea liniilor celulare de a absorbi eficient ADN străin, o caracteristică cunoscută sub numele de eficiență ridicată a transfecției. Integrarea ADN-ului viral în genomul celulelor HEK293 a dus la imortalizarea celulară și a sporit semnificativ utilitatea acestor celule în aplicațiile biotehnologice prin facilitarea încorporării și exprimării stabile a ADN-ului exogen, proces denumit transfecție stabilă. Această capacitate permite prezența și funcționarea persistentă a genelor străine în cadrul celulelor, făcând din HEK293 un instrument nepreţuit pentru studiile genetice și biotehnologie. Ca urmare, celulele HEK293 au devenit o resursă fundamentală în biotehnologie pentru producerea de proteine recombinante, inclusiv proteine terapeutice vitale, și ca celule gazdă robuste pentru generarea de vectori virali, în special vectori adenovirali și lentivirali. Celulele HEK 293 sunt esențiale în industria farmaceutică pentru testele de screening de mare randament, producerea de terapii genice care vizează gene specifice legate de afecțiuni cu o singură genă și studiile privind infecția adenovirală. În biotehnologia industrială, utilitatea liniei celulare umane HEK293 se extinde la producția de enzime recombinante, producția de vectori virali, cum ar fi vectorii adenovirali, producția de proteine și dezvoltarea de biosenzori. Cercetarea toxicologică beneficiază de aplicarea liniei celulare HEK în evaluarea impactului substanțelor chimice asupra biologiei celulare, inclusiv a efectelor asupra celulelor renale tipice și a potențialului terapiilor genice. Capacitatea liniei de celule nemuritoare HEK293 de a produce eficient proteine native subliniază rolul esențial al acesteia în cercetarea medicală, inclusiv în cercetarea cancerului și explorarea bazelor terapiei genice. Celulele HEK293 oferă o platformă unică pentru studierea biologiei celulare și a proteinelor de interes, depășind alte linii celulare prin versatilitate și utilitate atât în cercetare, cât și în aplicații industriale. În comparație, celulele HEK293T, o variantă a HEK293, sunt modificate pentru a spori eficiența transfecției, celulele HEK293F sunt adaptate pentru cultura în suspensie pentru a facilita producția de proteine pe scară largă, iar alte linii celulare de mamifere, cum ar fi celulele Vero, derivate din țesut renal de maimuță, sunt utilizate în principal pentru dezvoltarea vaccinurilor și studiile virale.
Organism	Om
Tissue	Rinichi
Applications	Gazdă de transfecție
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, rinichi embrionar uman 293

Caracteristici

Celule HEK293 | 300192

Age	Fetusul
Gender	Femei
Morphology	De tip epitelial
Growth properties	Monostrat, aderent

Date de reglementare

Citation	HEK293 (număr de catalog Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Această linie celulară derivată din rinichi embrionari HEK293 conţine secvenţe adenovirus-5 E1A/E1B datorită transformării, dar nu eliberează virus infecţios, ceea ce permite o capacitate proliferativă ridicată. Modificarea este prezentă în mod stabil în celulele renale embrionare. Această clasificare se aplică numai în Germania şi poate diferi în alte ţări.

Date biomoleculare

Receptors expressed	Vitronectină
Protein expression	CEA negativ, p53 pozitiv
Tumorigenic	La şoarecii nude
Virus susceptibility	Transformat cu adenovirus 5 ADN adenovirus 5 ADN
Ploidy status	30% din celulele HEK293 au cariotipuri hipotriploide cu 64 de cromozomi modali. Ploidii mai mari au fost găsite în 4,2% din celule.

Manipulare

Celule HEK293 | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 de ore
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Seeding density	1 x 10^4 celule/cm^2 vor forma un strat confluent în aproximativ 4 zile.
Fluid renewal	de 2 ori pe săptămână
Post-Thaw Recovery	După decongelare, plasați celulele la 5 x 10^4 celule/cm^2 și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HEK293 | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HEK293 | 300192

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.
Alele 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