Product sheet

HEK293-celler | 300192

Allmän information

Description	HEK293-cellinjen, en odödlig epitelcellinje som på 1970-talet framställdes av Alex van der Eb vid universitetet i Utrecht från mänskliga embryonala njurceller, har blivit en central experimentell modell inom molekylärbiologi och biotekniska tillämpningar tack vare sin anmärkningsvärda mångsidighet och enkla genetiska manipulation. Transformationen av HEK293-cellinjen innebar att ett specifikt segment av DNA från Adenovirus 5 integrerades, varvid de adenovirala E1A- och E1B-generna bäddades in i cellgenomet. Den adenovirala DNA-modifieringen möjliggjorde cellinjernas förmåga att effektivt ta upp främmande DNA, en egenskap som kallas hög transfektionseffektivitet. Integreringen av viralt DNA i HEK293-cellernas genom resulterade i cellulär odödlighet och förbättrade avsevärt dessa cellers användbarhet i biotekniska tillämpningar genom att underlätta stabil inkorporering och uttryck av exogent DNA, en process som kallas stabil transfektion. Denna förmåga gör att främmande gener kan finnas kvar och fungera i cellerna, vilket gör HEK293 till ett ovärderligt verktyg för genetiska studier och bioteknik. HEK293-celler har därför blivit en grundläggande resurs inom biotekniken för produktion av rekombinanta proteiner, inklusive viktiga terapeutiska proteiner, och som robusta värdceller för generering av virusvektorer, särskilt adenovirala och lentivirala vektorer. HEK 293-celler är centrala inom läkemedelsindustrin för screeninganalyser med hög kapacitet, tillverkning av genterapier inriktade på specifika gener i samband med sjukdomar som orsakas av enstaka gener samt studier av adenoviral infektion. Inom industriell bioteknik används den mänskliga cellinjen HEK293 för produktion av rekombinanta enzymer, produktion av virala vektorer, t.ex. adenovirala vektorer, proteinproduktion och utveckling av biosensorer. Toxikologisk forskning drar nytta av HEK-cellinjen för att bedöma kemikaliers inverkan på cellbiologin, inklusive effekterna på typiska njurceller och potentialen för genterapier. Den odödliga cellinjen HEK293:s förmåga att effektivt producera nativa proteiner understryker dess viktiga roll inom medicinsk forskning, inklusive cancerforskning och utforskning av grunderna för genterapi. HEK293-celler erbjuder en unik plattform för studier av cellbiologi och intressanta proteiner, och överträffar andra cellinjer i fråga om mångsidighet och användbarhet inom både forskning och industriella tillämpningar. Som jämförelse kan nämnas att HEK293T-celler, en variant av HEK293, modifieras för att förbättra transfektionseffektiviteten, att HEK293F-celler anpassas för suspensionskultur för att underlätta storskalig proteinproduktion och att andra cellinjer från däggdjur, t.ex. Vero-celler, som härrör från njurvävnad från apor, främst används för vaccinutveckling och virusstudier.
Organism	Människan
Tissue	Njurar
Applications	Värd för transfektion
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293

Egenskaper

Age	Foster

HEK293-celler | 300192

Gender	Kvinna
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

Citation	HEK293 (Cytion katalognummer 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Denna HEK293-cellinje, som härrör från embryonala njurceller, innehåller adenovirus-5 E1A/E1B-sekvenser på grund av transformation, men släpper inte ut smittsamma virus, vilket möjliggör hög proliferativ kapacitet. Modifieringen är stabilt närvarande i embryonala njurceller. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA-negativ, p53-positiv
Tumorigenic	I nakna möss
Virus susceptibility	Transformerad med adenovirus 5 DNA adenovirus 5 DNA
Ploidy status	30% av HEK293-cellerna har hypotriploida karyotyper med 64 modala kromosomer. Högre ploidier hittades i 4,2% av cellerna.

Hantering

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

HEK293-celler | 300192

Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 timmar
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2 ger ett konfluent skikt efter cirka 4 dagar.
Fluid renewal	2 gånger per vecka
Post-Thaw Recovery	Efter upptining, plattlägg cellerna med 5 x 10^4 celler/cm^2 och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

HEK293-celler | 300192

Thawing and Culturing Cells	1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten. 2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs. 3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår. 4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas. 5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt. 6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium. 7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt. 8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.
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