

**Bunky HEK293 | 300192****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HEK293, immortalizovaná epitelová bunková línia odvodená z ľudských embryonálnych obličkových buniek v 70. rokoch minulého storočia Alexom van der Ebom na Utrechtskej univerzite, sa stala kľúčovým experimentálnym modelom v molekulárnej biológii a biotechnologických aplikáciách vďaka svojej pozoruhodnej všestranosti a jednoduchjej genetickej manipulácii.

Transformácia bunkovej línie HEK293 zahŕňala integráciu špecifického segmentu z DNA adenovírusu 5, čím sa do bunkového genómu vložili adenovírusové gény E1A a E1B. Modifikácia adenovírusovej DNA umožnila schopnosť bunkových línií účinne prijímať cudziu DNA, čo je vlastnosť známa ako vysoká účinnosť transfekcie. Integrácia vírusovej DNA do genómu buniek HEK293 viedla k bunkovej immortalizácii a významne zvýšila využiteľnosť týchto buniek v biotechnologických aplikáciách tým, že uľahčila stabilnú inkorporáciu a expresiu exogénnej DNA, čo je proces označovaný ako stabilná transfekcia. Táto schopnosť umožňuje trvalú prítomnosť a funkciu cudzích génov v bunkách, čím sa HEK293 stáva neoceniteľným nástrojom pre genetické štúdie a biotechnológie.

V dôsledku toho sa bunky HEK293 stali základným zdrojom v biotechnológii na výrobu rekombinantných proteínov vrátane životne dôležitých terapeutických proteínov a slúžia ako robustné hostiteľské bunky na výrobu vírusových vektorov, najmä adenovírusových a lentivírusových vektorov. Bunky HEK 293 sú kľúčové vo farmaceutickom priemysle pre vysoko výkonné skriningové testy, výrobu génových terapií zameraných na špecifické gény súvisiace s poruchami jedného génu a štúdie adenovírusovej infekcie.

V priemyselnej biotechnológii sa využiteľnosť ľudskej bunkovej línie HEK 293 rozširuje na výrobu rekombinantných enzýmov, výrobu vírusových vektorov, ako sú adenovírusové vektory, výrobu proteínov a vývoj biosenzorov. Toxikologický výskum využíva bunkovú líniu HEK pri hodnotení vplyvu chemických látok na bunkovú biológiu vrátane účinkov na typické bunky obličiek a potenciálu pre génovú terapiu. Schopnosť nesmrteľnej bunkovej línie HEK293 účinne produkovať natívne proteíny zdôrazňuje ich zásadnú úlohu v lekárskom výskume vrátane výskumu rakoviny a skúmania základov génovej terapie.

Bunky HEK293 ponúkajú jedinečnú platformu na štúdium bunkovej biológie a proteínov, ktoré sú predmetom záujmu, a prekonávajú iné bunkové línie svojou všestranosťou a využiteľnosťou vo výskume aj v priemyselných aplikáciách. Na porovnanie, bunky HEK293T, variant HEK293, sú modifikované na zvýšenie účinnosti transfekcie, bunky HEK293F sú prispôbené na suspenznú kultúru na uľahčenie veľkoplošnej produkcie proteínov a iné bunkové línie cicavcov, ako sú bunky Vero, odvodené z tkaniva opičích obličiek, sa využívajú najmä pri vývoji vakcín a štúdiách vírusov.

**Organism**      Ľudské**Tissue**            Obličky**Applications**    Transfekčný hostiteľ**Synonyms**        Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293**Charakteristika****Age**                Plod

**Bunky HEK293 | 300192****Gender** Ženy**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje****Citation** HEK293 (katalógové číslo Cytion 300192)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0045**GMO Status** GMO-S1: Táto bunková línia HEK293 pochádzajúca z embryonálnych obličiek obsahuje sekvencie adenovírusu 5 E1A/E1B v dôsledku transformácie, ale neuvolňuje infekčný vírus, čo umožňuje vysokú proliferatívnu kapacitu. Modifikácia je stabilne prítomná v embryonálnych obličkových bunkách. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Vitronektín**Protein expression** CEA negatívny, p53 pozitívny**Tumorigenic** Na nahých myšiach**Virus susceptibility** Transformované adenovírusom 5 DNA adenovírusom 5 DNA**Ploidy status** 30 % buniek HEK293 má hypotriploidný karyotyp so 64 modálnymi chromozómami. Vyššie ploidy boli zistené u 4,2 % buniek.**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

**Bunky HEK293 | 300192**

**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 30 hodín

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.

**Fluid renewal** 2 krát týždenne

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii  $5 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky HEK293 | 300192

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky HEK293 | 300192

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### Alely 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