Product sheet

Bunky HEK293 | 300192

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia HEK293, imortalizovaná 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 všestrannosti a jednoduchej 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 imortalizácii 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 skríningové 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 všestrannosťou a využiteľnosťou vo výskume aj v priemyselných aplikáciách. Na porovnanie, bunky HEK293T, variant HEK293, sú modifikované na zvýšenie účinnosti transfekcie, bunky HEK293F sú prispôsobené 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 neuvoľňuje 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 ploidie boli zistené u 4,2 % buniek.

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO3, 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 odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1 x 10^4 buniek/cm^2 vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.
Fluid renewal	2 krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10^4 buniek/cm^2 a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné 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 obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

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 % $_{CO2}$, 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.

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 a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem 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