Product sheet

Celice HEK293 | 300192

Splošne informacije

Description	Celična linija HEK293, imortalizirana epitelijska celična linija, ki jo je Alex van der Eb na Univerzi v Utrechtu v 70. letih prejšnjega stoletja pridobil iz celic človeških embrionalnih ledvic, je zaradi svoje izjemne vsestranskosti in enostavne genetske manipulacije postala osrednji eksperimentalni model v molekularni biologiji in biotehnoloških aplikacijah. Transformacija celične linije HEK293 je vključevala integracijo posebnega segmenta iz DNK adenovirusa 5, ki je v celični genom vgradil adenovirusna gena E1A in E1B. Modifikacija adenovirusne DNK je omogočila sposobnost celičnih linij, da učinkovito sprejemajo tujo DNK, kar je znano kot visoka učinkovitost transfekcije. Integracija virusne DNK v genom celic HEK293 je povzročila celično nesmrtnost in znatno povečala uporabnost teh celic v biotehnoloških aplikacijah, saj je omogočila stabilno vključevanje in izražanje eksogene DNK, kar se imenuje stabilna transfekcija. Ta sposobnost omogoča trajno prisotnost in delovanje tujih genov v celicah, zaradi česar je HEK293 neprecenljivo orodje za genetske študije in biotehnologijo. Zato so celice HEK293 postale temeljni vir v biotehnologiji za proizvodnjo rekombinantnih proteinov, vključno s pomembnimi terapevtskimi proteini, in kot robustne gostiteljske celice za proizvodnjo virusnih vektorjev, zlasti adenovirusnih in lentivirusnih vektorjev. Celice HEK 293 so ključnega pomena v farmacevtski industriji za visoko zmogljive presejalne teste, proizvodnjo genskih terapij, usmerjenih v specifične gene, povezane z motnjami posameznih genov, in študije adenovirusnih okužb. V industrijski biotehnologiji se uporabnost človeške celične linije HEK 293 razteza na proizvodnjo rekombinantnih encimov, proizvodnjo virusnih vektorjev, kot so adenovirusni vektorji, proizvodnjo beljakovin in razvoj biosenzorjev. Toksikološke raziskave imajo koristi od uporabe celične linije HEK pri ocenjevanju vpliva kemikalij na celično biologijo, vključno z učinki na tipične ledvične celice in možnostjo genskih terapij. Sposobnost nesmrtne celične linije HEK293, da učinkovito proizvaja nativne beljakovine, poudarja njeno bistveno vlogo v medicinskih raziskavah, vključno z raziskavami raka in raziskovanjem temeljev genskega zdravljenja. Celice HEK293 so edinstvena platforma za preučevanje celične biologije in zanimivih beljakovin, saj po vsestranskosti in uporabnosti v raziskavah in industriji prekašajo druge celične linije. Za primerjavo, celice HEK293T, ki so različica HEK293, so spremenjene za povečanje učinkovitosti transfekcije, celice HEK293F so prilagojene za suspenzijsko gojenje, da se olajša proizvodnja beljakovin v velikem obsegu, druge celične linije sesalcev, kot so celice Vero, pridobljene iz tkiva opičjih ledvic, pa se uporabljajo predvsem pri razvoju cepiv in virusnih študij.
Organism	Človek
Tissue	Ledvice
Applications	Gostitelj za transfekcijo
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293

Značilnosti

Celice HEK293 | 300192

Age	Plod
Gender	Ženske
Morphology	Epitelijam podobni
Growth properties	Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation	HEK293 (kataloška številka Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija, pridobljena iz embrionalnih ledvic HEK293, vsebuje sekvence adenovirusa-5 E1A/E1B zaradi transformacije, vendar ne sprošča okužljivega virusa, kar omogoča visoko proliferacijsko sposobnost. Modifikacija je stabilno prisotna v embrionalnih ledvičnih celicah. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA negativen, p53 pozitiven
Tumorigenic	Na golih miših
Virus susceptibility	Transformacija z adenovirusom 5 DNK adenovirus 5 DNK
Ploidy status	30 % celic HEK293 ima hipotriploidne kariotipe s 64 modalnimi kromosomi. Višje ploidije so bile ugotovljene pri 4,2 % celic.

Ravnanje s spletno stranjo

Product sheet

Celice HEK293 | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 ur
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2 bo v približno 4 dneh tvorilo konfluentno plast.
Fluid renewal	2-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 cel^{ic}/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice HEK293 | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.
Aleli 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