Product sheet

HEK293 Hücreleri | 300192

Genel bilgi

Description	1970'lerde Utrecht Üniversitesi'nde Alex van der Eb tarafından insan embriyonik böbrek hücrelerinden türetilen ölümsüzleştirilmiş bir epitel hücre hattı olan HEK293 hücre hattı, olağanüstü çok yönlülüğü ve genetik manipülasyon kolaylığı nedeniyle moleküler biyoloji ve biyoteknolojik uygulamalarda önemli bir deneysel model haline gelmiştir. HEK293 hücre hattının transformasyonu, Adenoviral E1A ve E1B genlerini hücresel genom içine yerleştiren Adenovirüs 5 DNA'sından belirli bir segmentin entegrasyonunu içeriyordu. Adenoviral DNA modifikasyonu, hücre hatlarının yüksek transfeksiyon verimliliği olarak bilinen bir özellik olan yabancı DNA'yı verimli bir şekilde alabilmesini sağladı. Viral DNA'nın HEK293 hücre genomuna entegrasyonu hücresel immortalizasyonla sonuçlanmış ve stabil transfeksiyon olarak adlandırılan bir süreç olan eksojen DNA'nın stabil bir şekilde dahil edilmesini ve ekspresyonunu kolaylaştırarak bu hücrelerin biyoteknolojik uygulamalardaki kullanımını önemli ölçüde artırmıştır. Bu özellik, yabancı genlerin hücreler içinde kalıcı olarak bulunmasını ve işlev görmesini sağlayarak HEK293'ü genetik çalışmalar ve biyoteknoloji için paha biçilmez bir araç haline getirmektedir. Sonuç olarak, HEK293 hücreleri biyoteknolojide hayati önem taşıyan terapötik proteinler de dahil olmak üzere rekombinant proteinlerin üretimi için temel bir kaynak haline gelmiş ve viral vektörlerin, özellikle de adenoviral ve lentiviral vektörlerin üretimi için sağlam konak hücreler olarak hizmet vermektedir. HEK 293 hücreleri ilaç endüstrisinde yüksek verimli tarama deneyleri, tek gen bozukluklarıyla ilgili spesifik genleri hedefleyen gen terapilerinin üretimi ve adenoviral enfeksiyon çalışmaları için çok önemlidir. Endüstriyel biyoteknolojide, HEK293 insan hücre hattının kullanımı rekombinant enzim üretimi, adenoviral vektörler gibi viral vektör üretimi, protein üretimi ve biyosensörlerin geliştirilmesine kadar uzanmaktadır. Toksikoloji araştırmaları, tipik böbrek hücreleri üzerindeki etkiler ve gen terapileri potansiyeli de dahil olmak üzere kimyasalların hücre biyolojisi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde HEK hücre hattının uygulanmasından faydalanmaktadır. Ölümsüz hücre hattı HEK293'ün doğal proteinleri verimli bir şekilde üretme yeteneği, kanser araştırmaları ve gen terapisinin temellerini keşfetmek de dahil olmak üzere tıbbi araştırmalardaki temel rolünü vurgulamaktadır. HEK293 hücreleri, hücre biyolojisini ve ilgilenilen proteinleri incelemek için benzersiz bir platform sunmakta ve hem araştırma hem de endüstriyel uygulamalarda çok yönlülük ve kullanım açısından diğer hücre hatlarını geride bırakmaktadır. Buna karşılık, HEK293'ün bir varyantı olan HEK293T hücreleri transfeksiyon verimliliğini artırmak için modifiye edilir, HEK293F hücreleri büyük ölçekli protein üretimini kolaylaştırmak için süspansiyon kültürüne uyarlanır ve maymun böbrek dokusundan türetilen Vero hücreleri gibi diğer memeli hücre hatları öncelikle aşı geliştirme ve viral çalışmalarda kullanılır.
Organism	İnsan
Tissue	Böbrek
Applications	Transfeksiyon konağı
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, İnsan Embriyonik Böbrek 293

Özellikler

HEK293 Hücreleri | 300192

Age	Fetüs
Gender	Kadın
Morphology	Epitel benzeri
Growth properties	Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation	HEK293 (Cytion katalog numarası 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Bu HEK293 embriyonik böbrek kaynaklı hücre hattı, transformasyon nedeniyle adenovirüs-5 E1A/E1B sekansları içerir, ancak bulaşıcı virüs yaymaz ve yüksek proliferatif kapasite sağlar. Modifikasyon, embriyonik böbrek hücrelerinde stabil olarak mevcuttur. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA negatif, p53 pozitif
Tumorigenic	Çıplak farelerde
Virus susceptibility	Adenovirüs 5 DNA'sı ile dönüştürülmüş adenovirüs 5 DNA'sı
Ploidy status	hEK293 hücrelerinin %30'u 64 modal kromozomlu hipotriploid karyotiplere sahiptir. Hücrelerin %4,2'sinde daha yüksek ploidiler bulunmuştur.

Elleçleme

HEK293 Hücreleri | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion makale numarası 820100a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 saat
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Seeding density	1 x 10^4 hücre/cm^2 yaklaşık 4 gün içinde birleşik bir tabaka oluşturacaktır.
Fluid renewal	haftada 2 kez
Post-Thaw Recovery	Çözüldükten sonra, hücreleri 5 x 10^4 hücre/cm^2 olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere	37°C, %5 $_{CO2}$, nemlendirilmiş atmosfer.
Flask Coating	Yok
Freezing Procedure	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.
Shipping Conditions	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions	Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility	Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.
HLA alelleri	**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