Product sheet

Клітини HEK293 | 300192

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія HEK293, імморталізована епітеліальна лінія клітин, отримана з ембріональних клітин нирок людини в 1970-х роках Алексом ван дер Ебом в Утрехтському університеті, стала ключовою експериментальною моделлю в молекулярній біології та біотехнологіях завдяки своїй надзвичайній універсальності та простоті генетичних маніпуляцій. Трансформація клітинної лінії HEK293 включала інтеграцію специфічного сегмента з ДНК аденовірусу 5, вбудовуючи аденовірусні гени E1A і E1B в клітинний геном. Модифікація аденовірусної ДНК підвищила здатність клітинних ліній ефективно поглинати чужорідну ДНК - властивість, відому як висока ефективність трансфекції. Інтеграція вірусної ДНК в геном клітин HEK293 призвела до клітинної імморталізації і значно підвищила корисність цих клітин у біотехнологічному застосуванні, сприяючи стабільному включенню та експресії екзогенної ДНК - процесу, який називається стабільною трансфекцією. Ця здатність дозволяє забезпечити постійну присутність і функціонування чужорідних генів у клітинах, що робить HEK293 безцінним інструментом для генетичних досліджень і біотехнологій. В результаті клітини HEK293 стали фундаментальним ресурсом у біотехнології для виробництва рекомбінантних білків, включаючи життєво важливі терапевтичні білки, і слугують надійними клітинами-господарями для генерації вірусних векторів, зокрема аденовірусних і лентівірусних векторів. Клітини HEK 293 відіграють ключову роль у фармацевтичній промисловості для високопродуктивних скринінгових аналізів, виробництва генної терапії, спрямованої на конкретні гени, пов'язані з окремими генними порушеннями, та досліджень аденовірусних інфекцій. У промисловій біотехнології корисність клітинної лінії людини HEK293 поширюється на виробництво рекомбінантних ферментів, виробництво вірусних векторів, таких як аденовірусні вектори, виробництво білків і розробку біосенсорів. Токсикологічні дослідження отримують користь від застосування клітинної лінії HEK для оцінки впливу хімічних речовин на клітинну біологію, включаючи вплив на типові клітини нирок і потенціал для генної терапії. Здатність безсмертної клітинної лінії HEK293 ефективно виробляти власні білки підкреслює їх важливу роль у медичних дослідженнях, включаючи дослідження раку та вивчення основ генної терапії. Клітини HEK293 пропонують унікальну платформу для вивчення клітинної біології та білків, що представляють інтерес, перевершуючи інші клітинні лінії за універсальністю та корисністю як у дослідницьких, так і в промислових цілях. Для порівняння, клітини HEK293T, варіант HEK293, модифіковані для підвищення ефективності трансфекції, клітини HEK293F адаптовані для суспензійного культивування для полегшення великомасштабного виробництва білків, а інші клітинні лінії ссавців, такі як клітини Vero, отримані з тканини нирок мавп, в основному використовуються для розробки вакцин і дослідження вірусів.
Organism	Людина
Tissue	Нирка
Applications	Хазяїн для трансфекції
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, людська ембріональна нирка 293

Product sheet

Клітини HEK293 | 300192

Характеристики

Age	Плід
Gender	Жінка
Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation	HEK293 (номер за каталогом Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія, отримана з ембріональних нирок HEK293, містить послідовності аденовірусу-5 E1A/E1B внаслідок трансформації, але не виділяє інфекційного вірусу, що забезпечує високу проліферативну здатність. Модифікація стабільно присутня в ембріональних ниркових клітинах. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	Вітронектин
Protein expression	CEA негативний, p53 позитивний
Tumorigenic	У голих мишей
Virus susceptibility	Трансформовані аденовірусом 5 ДНК аденовірусом 5 ДНК
Ploidy status	30% клітин HEK293 мають гіпотриплоїдний каріотип з 64 модальними хромосомами. Більш високі плоїдності були виявлені у 4,2% клітин.

Клітини HEK293 | 300192

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	30 годин
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1 x 10^4 клітин/$см^2$ утворить конfluентний шар приблизно за 4 дні.
Fluid renewal	2 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10^4 клітин/^{см2} і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини HEK293 | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини HEK293 | 300192

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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