Product sheet

Cellules HEK293 | 300192

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire HEK293, une lignée cellulaire épithéliale immortalisée dérivée de cellules rénales embryonnaires humaines dans les années 1970 par Alex van der Eb à l'Université d'Utrecht, est devenue un modèle expérimental incontournable en biologie moléculaire et dans les applications biotechnologiques grâce à sa remarquable polyvalence et à la facilité avec laquelle elle se prête à la manipulation génétique. La transformation de la lignée cellulaire HEK293 a impliqué l'intégration d'un segment spécifique de l'ADN de l'adénovirus 5, incorporant ainsi les gènes adénoviraux E1A et E1B au sein du génome cellulaire. Cette modification de l'ADN adénoviral a permis à la lignée cellulaire d'absorber efficacement l'ADN étranger, une caractéristique connue sous le nom d'efficacité de transfection élevée. L'intégration de l'ADN viral dans le génome des cellules HEK293 a entraîné l'immortalisation cellulaire et a considérablement accru l'utilité de ces cellules dans les applications biotechnologiques en facilitant l'incorporation et l'expression stables d'ADN exogène, un processus appelé « transfection stable ». Cette capacité permet la présence et le fonctionnement persistants de gènes étrangers au sein des cellules, faisant des cellules HEK293 un outil inestimable pour les études génétiques et la biotechnologie. Par conséquent, les cellules HEK293 sont devenues une ressource fondamentale en biotechnologie pour la production de protéines recombinantes, y compris des protéines thérapeutiques essentielles, et servent de cellules hôtes robustes pour la génération de vecteurs viraux, en particulier les vecteurs adénoviraux et lentiviraux. Les cellules HEK 293 jouent un rôle central dans l'industrie pharmaceutique pour les essais de criblage à haut débit, la fabrication de thérapies géniques ciblant des gènes spécifiques liés à des troubles monogéniques, ainsi que pour les études sur l'infection adénovirale. En biotechnologie industrielle, l'utilité de la lignée cellulaire humaine HEK293 s'étend à la production d'enzymes recombinantes, à la production de vecteurs viraux, tels que les vecteurs adénoviraux, à la production de protéines et au développement de biocapteurs. La recherche en toxicologie tire parti de l'utilisation de la lignée cellulaire HEK pour évaluer les impacts des produits chimiques sur la biologie cellulaire, y compris les effets sur les cellules rénales typiques et le potentiel des thérapies géniques. La capacité de la lignée cellulaire immortelle HEK293 à produire efficacement des protéines natives souligne son rôle essentiel dans la recherche médicale, notamment la recherche sur le cancer et l'exploration des fondements de la thérapie génique. Les cellules HEK293 offrent une plateforme unique pour l'étude de la biologie cellulaire et des protéines d'intérêt, surpassant les autres lignées cellulaires en termes de polyvalence et d'utilité, tant dans la recherche que dans les applications industrielles. En comparaison, les cellules HEK293T, une variante de la lignée HEK293, sont modifiées pour améliorer l'efficacité de la transfection; les cellules HEK293F sont adaptées à la culture en suspension afin de faciliter la production de protéines à grande échelle; et d'autres lignées cellulaires mammifères, telles que les cellules Vero, dérivées de tissu rénal de singe, sont principalement utilisées dans le développement de vaccins et les études virales.
Organism	Humain
Tissue	Rein
Applications	Hôte de transfection
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, rein embryonnaire humain 293

Product sheet

Cellules HEK293 | 300192

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Femme
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation	HEK293 (numéro de catalogue Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire dérivée de reins embryonnaires HEK293 contient des séquences E1A/E1B de l'adénovirus de type 5 résultant d'une transformation, mais ne libère pas de virus infectieux, ce qui lui confère une grande capacité de prolifération. Cette modification est présente de manière stable dans les cellules rénales embryonnaires. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Vitronectine
Protein expression	CEA négatif, p53 positif
Tumorigenic	Chez les souris nues
Virus susceptibility	Transformé à l'aide d'ADN d'adénovirus 5 ADN d'adénovirus 5
Ploidy status	30 % des cellules HEK293 présentent des caryotypes hypotriploïdes comportant 64 chromosomes modaux. Des ploidies plus élevées ont été observées dans 4,2 % des cellules.

Cellules HEK293 | 300192

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de $NaHCO_3$, et EBSS (référence Cytion 820100a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 heures
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	Une concentration de 1×10^4 cellules/cm^2 permettra d'obtenir une couche confluente en environ 4 jours.
Fluid renewal	2 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à une densité de 5×10^4 cellules/cm^2 et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.