Клетки HEK293 | 300192

Обща информация

Description	Клетъчната линия HEK293, безсмъртна епителна клетъчна линия, получена от човешки ембрионални бъбречни клетки през 70-те години на миналия век от Алекс ван дер Еб в Университета в Утрехт, се е превърнала в основен експериментален модел в молекулярната биология и биотехнологичните приложения поради своята забележителна гъвкавост и лекота на генетичните манипулации. Трансформацията на клетъчната линия HEK293 включва интегрирането на специфичен сегмент от ДНК на аденовирус 5, който вгражда аденовирусните гени E1A и E1B в клетъчния геном. Модификацията на аденовирусната ДНК позволява на клетъчните линии да приемат ефективно чужда ДНК, което е известно като висока ефективност на трансфекция. Интегрирането на вирусната ДНК в генома на клетките HEK293 доведе до клетъчно безсмъртие и значително повиши полезността на тези клетки в биотехнологичните приложения, като улесни стабилното включване и експресия на екзогенна ДНК - процес, наречен стабилна трансфекция. Тази способност позволява постоянното присъствие и функциониране на чужди гени в клетките, което превръща HEK293 в безценен инструмент за генетични изследвания и биотехнологии. В резултат на това клетките HEK293 се превърнаха в основен ресурс в биотехнологиите за производство на рекомбинантни протеини, включително жизненоважни терапевтични протеини, и служат като стабилни клетки-гостоприемници за генериране на вирусни вектори, по-специално аденовирусни и лентивирусни вектори. Клетките HEK 293 са ключови във фармацевтичната индустрия за високопроизводителни скринингови анализи, производство на генни терапии, насочени към специфични гени, свързани с единични генни нарушения, и изследвания на аденовирусни инфекции. В индустриалната биотехнология полезността на човешката клетъчна линия HEK293 се простира до производството на рекомбинантни ензими, производството на вирусни вектори, като аденовирусни вектори, производството на протеини и разработването на биосензори. Изследванията в областта на токсикологията се възползват от приложението на клетъчната линия HEK за оценка на въздействието на химикалите върху клетъчната биология, включително въздействието върху типичните бъбречни клетки и потенциала за генни терапии. Способността на безсмъртната клетъчна линия HEK293 да произвежда ефективно нативни протеини подчертава съществената ѝ роля в медицинските изследвания, включително в изследванията на рака и проучването на основите на генната терапия. Клетките HEK293 предлагат уникална платформа за изучаване на клетъчната биология и протеините, които представляват интерес, като превъзхождат други клетъчни линии по своята гъвкавост и полезност както в научните изследвания, така и в промишлените приложения. За сравнение, клетките HEK293T, вариант на HEK293, са модифицирани, за да се повиши ефективността на трансфекцията, клетките HEK293F са адаптирани за суспензионни култури, за да се улесни широкомащабното производство на протеини, а други клетъчни линии на бозайници, като например клетките Vero, получени от бъбречна тъкан на маймуна, се използват предимно при разработването на ваксини и вирусни изследвания.
Organism	Човек
Tissue	Бъбреци
Applications	Гостоприемник за трансфекция

Клетки HEK293 | 300192

Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Human Embryonic Kidney 293

Характеристики

Age	Плод
Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HEK293 (каталожен номер 300192 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия, получена от ембрионални бъбречни клетки HEK293, съдържа аденовирус-5 E1A/E1B последователности в резултат на трансформация, но не отделя инфекциозен вирус, което позволява висока пролиферативна способност. Модификацията е стабилно присъстваща в ембрионалните бъбречни клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Витронектин
Protein expression	CEA отрицателен, p53 положителен
Tumorigenic	При голи мишки
Virus susceptibility	Трансформирани с аденовирус 5 ДНК аденовирус 5 ДНК

Клетки HEK293 | 300192

Ploidy status	30% от клетките HEK293 имат хипотриплоидни кариотипове с 64 модални хромозоми. По-високи плоиди са открити при 4,2 % от клетките.

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10^4 клетки/cm^2 ще дадат конфулентен слой за около 4 дни.
Fluid renewal	2 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HEK293 | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEK293 | 300192

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**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