

HEK293 sejtek | 300192

Általános információk

Description

A HEK293 sejt vonal, egy immortalizált epitélisejt vonal, amelyet az 1970-es években Alex van der Eb az Utrechti Egyetemen emberi embrionális vesesejtekből nyert, figyelemre méltó sokoldalúsága és könnyű genetikai manipulálhatósága miatt a molekuláris biológia és a biotechnológiai alkalmazások kulcsfontosságú kísérleti modelljévé vált.

A HEK293 sejt vonal transzformációja az Adenovírus 5 DNS egy specifikus szegmensének integrálásával történt, amely az adenovírus E1A és E1B génjeit ágyazta be a sejt genomjába. Az adenovírus DNS-módosítás lehetővé tette, hogy a sejt vonalak hatékonyan képesek legyenek idegen DNS-t felvenni, ami nagy transzfekeciók hatékonyságának nevezett tulajdonság. A vírus-DNS beépítése a HEK293 sejtek genomjába a sejtek immortalizációját eredményezte, és jelentősen növelte e sejtek hasznosságát biotechnológiai alkalmazásokban azáltal, hogy megkönnyítette az exogén DNS stabil beépülését és expresszióját, amit stabil transzfekeciónak nevezünk. Ez a képesség lehetővé teszi az idegen gének tartós jelenlétét és működését a sejtekben, ami a HEK293-at felbecsülhetetlen értékű eszközzé teszi a genetikai vizsgálatok és a biotechnológia számára.

Ennek eredményeképpen a HEK293 sejtek a biotechnológia alapvető erőforrásává váltak a rekombináns fehérjék - köztük létfontosságú terápiás fehérjék - előállításában, valamint a vírusvektorok, különösen az adenovirális és lentivirális vektorok előállításához szükséges robusztus gazdasejteké. A HEK 293 sejtek kulcsfontosságúak a gyógyszeriparban a nagy átteresztőképességű szűrővizsgálatokban, az egyénes rendelkezésekkel kapcsolatos specifikus géneket célzó génterápiák előállításában és az adenovírus-fertőzéssel kapcsolatos vizsgálatokban.

Az ipari biotechnológiában a HEK293 humán sejt vonal hasznossága kiterjed a rekombináns enzimek előállítására, a vírusvektorok, például adenovirális vektorok előállítására, a fehérje előállítására és a bioszenzorok fejlesztésére. A toxikológiai kutatásokban a HEK-sejt vonal alkalmazása előnyös a vegyi anyagok sejtbiológiára gyakorolt hatásainak értékelésében, beleértve a tipikus vesesejtekre gyakorolt hatásokat és a génterápiák lehetőségeit. A HEK293 halhatatlan sejt vonalnak a natív fehérjék hatékony előállítására való képessége kiemeli alapvető szerepét az orvosi kutatásban, beleértve a rákkutatást és a génterápia alapjainak feltárását.

A HEK293 sejtek egyedülálló platformot kínálnak a sejtbiológia és az érdeklődésre számot tartó fehérjék tanulmányozásához, sokoldalúságban és hasznosságban felülmúlva más sejt vonalakat mind a kutatásban, mind az ipari alkalmazásokban. Ehhez képest a HEK293T sejteket, a HEK293 egyik változatát a transzfekeciók hatékonyságának növelése érdekében módosítják, a HEK293F sejteket szuszpenziós tenyésztésre adaptálják a nagyszabású fehérjeelőállítás megkönnyítése érdekében, és más emlős sejt vonalakat, például a majom veseszövetéből származó Vero sejteket elsősorban vakcinafejlesztésben és vírusos vizsgálatokban használják.

Organism

Emberi

Tissue

Vese

Applications

Transzfekeciók gazdatest

Synonyms

Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Emberi embrionális vese 293

Jellemzők

HEK293 sejtek | 300192

Age	Magzat
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation	HEK293 (Cytion katalógusszám: 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Ez a HEK293 embrionális vese-eredetű sejtvonal transzformáció következtében adenovírus-5 E1A/E1B szekvenciákat tartalmaz, de nem bocsát ki fertőző vírust, ami nagy proliferációs kapacitást tesz lehetővé. A módosítás stabilan jelen van az embrionális vese sejtekben. Ez a besorolás csak Németországon belül érvényes, máshol eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA negatív, p53 pozitív
Tumorigenic	Meztelen egerekben
Virus susceptibility	Adenovírus 5 DNS-sel átalakítva adenovírus 5 DNS-sel
Ploidy status	a HEK293 sejtek 30%-a hipotriploid kariotípusú, 64 modális kromoszómával. A sejtek 4,2%-ában magasabb ploidia volt kimutatható.

A kezelése

HEK293 sejtek | 300192

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
-----------------------	--

Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	30 óra
----------------------	--------

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

Seeding density	1×10^4 sejt/cm ² körülbelül 4 nap alatt konfluens réteget képez.
------------------------	--

Fluid renewal	hetente 2 alkalommal
----------------------	----------------------

Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm ² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
---------------------------	--

Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.
----------------------	--

HEK293 sejtek | 300192

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HEK293 sejtek | 300192

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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