

Клетки HEK293A | 305070

Обща информация

Description

Клетъчната линия HEK293A, производна на клетките на човешкия ембрионален бъбрек 293 (HEK293), представлява специализиран инструмент за вирусологични изследвания и генна терапия, по-специално за производство, усилване и титруване на аденовируси, които не са способни на репликация. Тези клетки притежават плоска морфология, която значително подпомага микроскопското изследване и процесите на титруване, като улеснява преброяването и оценката на вирусните частици.

Основна характеристика на клетъчната линия HEK293A е стабилното интегриране на аденовирусния ген E1 в нейния геном. Тази интеграция е от решаващо значение, тъй като осигурява необходимия транскрипционен механизъм за експресия на протеините E1, по-специално E1a и E1b. Наличието на тези протеини е от съществено значение за репликацията на аденовирусните вектори в клетката. Протеинът E1a функционира основно за активиране на транскрипцията на аденовирусния геном, докато протеините E1b участват във вирусната репликация и нарушаването на клетъчния цикъл.

Полезността на клетките HEK293A се простира отвъд простото поддържане на вирусната репликация. Тези клетки улесняват ефективното производство на високо титърни, висококачествени вирусни препарати, които са от съществено значение както за фундаментални изследвания, така и за терапевтични приложения. Силният капацитет за репликация на клетъчната линия и лесната работа с нея позволяват на изследователите да провеждат скрининг и да разработват аденовирусни конструкции с безпрецедентна прецизност и ефективност.

В обобщение, клетъчната линия HEK293A е незаменим ресурс в областта на вирусологията и генната терапия. Способността ѝ да експресира стабилно протеини E1 и да поддържа аденовирусна репликация я прави ценен инструмент за изследователите, които искат да произвеждат и манипулират аденовирусни вектори. Характеристиките на клетъчната линия позволяват ефективно генериране на вирусни вектори, което е от решаващо значение за напредъка на научните изследвания и потенциалните терапевтични интервенции.

Organism Човек

Tissue Ембрионален бъбрек

Synonyms HEK-293A, HEK293A, HEK 293A, HEK293-A, QBI-HEK 293A, QBI-293A

Характеристики

Age Плод

Gender Жена

Morphology Епителиален

Growth properties Придържачи се

Клетки HEK293A | 305070

Регулаторни данни

Citation	HEK293A (каталожен номер 305070 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293A съдържа SV40 от вируса Simian Virus 40, което спомага за по-добра трансфекция и пролиферация. Конструктът е стабилно интегриран в ембрионални бъбречни клетки. Тази класификация важи само на територията на Германия и може да се различава в други държави.

Биомолекуларни данни

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
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.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
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 HEK293A | 305070

**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEK293A | 305070

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.