

HEK293A-celler | 305070

Generel information

Description

HEK293A-cellelinjen, som er et derivat af de humane embryonale 293-celler (HEK293), er et specialiseret værktøj inden for virologisk og genterapeutisk forskning, især inden for produktion, amplifikation og titrering af replikationsinkompetente adenovirus. Disse celler har en flad morfologi, som er en stor hjælp ved mikroskopiske undersøgelser og titreringsprocesser, hvilket gør det nemmere at tælle og vurdere viruspartikler.

Et centralt træk ved HEK293A-cellelinjen er den stabile integration af adenovirus E1-genet i dens genom. Denne integration er kritisk, da den giver det nødvendige transkriptionsmaskineri til ekspresion af E1-proteiner, især E1a og E1b. Tilstedeværelsen af disse proteiner er afgørende for replikationen af adenovirale vektorer i cellen. E1a-proteinet fungerer primært til at aktivere transkription af adenovirusgenomet, mens E1b-proteiner er involveret i viral replikation og forstyrrelse af celleyklus.

Brugen af HEK293A-celler strækker sig ud over blot at understøtte viral replikation. Disse celler muliggør en effektiv produktion af højtiter-viruspræparater af høj kvalitet, som er vigtige for både grundforskning og terapeutiske anvendelser. Cellelinjens robuste replikationskapacitet og lette håndtering gør det muligt for forskere at screene og udvikle adenovirale konstruktioner med hidtil uset præcision og effektivitet.

Kort sagt er HEK293A-cellelinjen en uundværlig ressource inden for virologi og genterapi. Dens evne til stabilt at udtrykke E1-proteiner og understøtte adenoviral replikation gør den til et værdifuldt værktøj for forskere, der ønsker at producere og manipulere adenovirale vektorer. Cellelinjens egenskaber muliggør en effektiv generering af virale vektorer, hvilket er afgørende for at fremme forskning og potentielle terapeutiske indgreb.

Organism Menneske

Tissue Embryonal nyre

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

Karakteristika

Age Foster

Gender Kvinde

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation HEK293A (Cytion katalognummer 305070)

HEK293A-celler | 305070

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6910**GMO Status** GMO-S1: Denne HEK293A-cellelinje indeholder SV40 fra Simian Virus 40, hvilket fremmer transfektionsydelsen og celledelingen. Konstruktet er stabilt integreret i embryonale nyreceller. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

HEK293A-celler | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HEK293A-celler | 305070

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.