

HEK293A-solut | 305070

Yleisiä tietoja

Description

HEK293A-solulinja, joka on ihmisen alkionmunuaisen 293-solujen (HEK293) johdannainen, on erikoistunut väline virologisessa ja geeniterapiatutkimuksessa, erityisesti replikaatiokyvyttömiä adenovirusten tuottamisessa, monistamisessa ja titraamisessa. Näillä soluilla on litteä morfologia, mikä helpottaa merkittävästi mikroskooppista tutkimusta ja titrausprosesseja ja helpottaa viruspartikkelien laskemista ja arviointia.

HEK293A-solulinjan keskeinen ominaisuus on adenoviruksen E1-geenin vakaa integroituminen sen genomiin. Tämä integroituminen on ratkaisevan tärkeää, koska se tarjoaa tarvittavan transkriptiokoneiston E1-proteiinien, erityisesti E1a:n ja E1b:n, ilmentymiselle. Näiden proteiinien läsnäolo on välttämätöntä adenovirusvektoreiden replikaatiolle solussa. E1a-proteiini toimii ensisijaisesti adenoviruksen genomin transkription aktivoimiseksi, kun taas E1b-proteiinit osallistuvat viruksen replikaatioon ja solusyklin häiriöihin.

HEK293A-solujen hyöty ulottuu laajemmalle kuin pelkkä virusten replikaation tukeminen. Nämä solut helpottavat korkealaatuisten ja korkean titterin virusvalmisteiden tehokasta tuotantoa, joka on välttämätöntä sekä perustutkimuksessa että terapeuttisissa sovelluksissa. Solulinjan vankka replikaatiokapasiteetti ja helppokäyttöisyys antavat tutkijoille mahdollisuuden seuloa ja kehittää adenoviruskonstruktioita ennennäkemättömän tarkasti ja tehokkaasti.

Yhteenvetona voidaan todeta, että HEK293A-solulinja on välttämätön resurssi virologian ja geeniterapian alalla. Sen kyky ilmentää vakaasti E1-proteiineja ja tukea adenovirusten replikaatiota tekee siitä arvokkaan työkalun tutkijoille, jotka haluavat tuottaa ja manipuloida adenovirusvektoreita. Solulinjan ominaisuudet mahdollistavat virusvektorien tehokkaan tuottamisen, mikä on ratkaisevan tärkeää tutkimuksen ja mahdollisten terapeuttisten toimenpiteiden edistämiseksi.

Organism Ihminen

Tissue Alkion munuainen

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

Ominaisuudet

Age Sikiö

Gender Nainen

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

HEK293A-solut | 305070

Citation	HEK293A (Cytionin luettelonumero 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: Tämä HEK293A-solulinja sisältää Simian Virus 40:stä peräisin olevaa SV40-virusta, mikä parantaa transfektiotehokkuutta ja solujen lisääntymistä. Rakenteellinen muunnoksesta on integroitu vakaasti alkion munuais kudokseen. Tämä luokitus koskee ainoastaan Saksaa, ja se voi poiketa muissa maissa.

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HEK293A-solut | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEK293A-solut | 305070

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.