

HEK293A sejtek | 305070

Általános információk

Description

A HEK293A sejtvonala, amely a humán embrionális vese 293 (HEK293) sejtek származéka, speciális eszközt jelent a virológiai és génterápiás kutatásokban, különösen a replikáció-inkompetens adenovírusok előállításában, amplifikálásában és titrálásában. Ezek a sejtek lapos morfológiával rendelkeznek, ami jelentősen megkönnyíti a mikroszkopos vizsgálatot és a titrálási folyamatokat, és egyszerűbbé teszi a vírusrészecskék megszámlálását és értékelését.

A HEK293A sejtvonala kulcsfontosságú jellemzője az adenovírus E1 génjének stabil integrálása a genomjába. Ez az integráció kritikus jelentőségű, mivel biztosítja az E1 fehérjék, különösen az E1a és E1b expressziójához szükséges transzkripció gépezetét. E fehérjék jelenléte elengedhetetlen az adenovírus vektorok sejtben történő replikációjához. Az E1a fehérje elsősorban az adenovírus genom transzkripciójának aktiválásában működik, míg az E1b fehérje a vírus replikációjában és a sejtciklus megszakításában vesznek részt.

A HEK293A sejtek hasznossága túlmutat a vírusreplikáció pusztá támogatásán. Ezek a sejtek megkönnyítik a magas titerű, jó minőségű víruspreparátumok hatékony előállítását, amelyek mind az alapkutatáshoz, mind a terápiás alkalmazásokhoz nélkülözhetetlenek. A sejtvonala robusztus replikációs kapacitása és könnyű kezelhetősége lehetővé teszi a kutatók számára, hogy adenovirális konstrukciókat szűrjenek és fejlesszenek ki példátlan pontossággal és hatékonysággal.

Összefoglalva, a HEK293A sejtvonala nélkülözhetetlen erőforrás a virológia és a génterápia területén. Az E1 fehérjék stabil expressziójára és az adenovirális replikáció támogatására való képessége értékes eszközzé teszi az adenovirális vektorok előállítását és manipulálását célzó kutatók számára. A sejtvonala jellemzői lehetővé teszik a vírusvektorok hatékony előállítását, ami kulcsfontosságú a kutatás és a lehetséges terápiás beavatkozások előmozdítása szempontjából.

Organism Emberi

Tissue Embrionális vese

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

Jellemzők

Age Magzat

Gender Női

Morphology Epithelialis

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

HEK293A sejtek | 305070

Citation	HEK293A (Cytion katalógusszám 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: Ez a HEK293A sejtvonal a Simian Virus 40-ből származó SV40-et tartalmazza, ami elősegíti a jobb transzfecció teljesítményt és a sejtek szaporodását. A konstrukció stabilan beépült az embrionális vese sejtekbe. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

A kezelése

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
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.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás 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.

HEK293A sejtek | 305070

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 krioüklét 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 sejt kölcsönhatás 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 , párásított 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.

HEK293A sejtek | 305070

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat 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 sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.