

HEK293A ląstelės | 305070

Bendra informacija

Description

HEK293A ląstelių linija, žmogaus embrioninio inksto 293 (HEK293) ląstelių darinys, yra specializuota virusologinių ir genų terapijos tyrimų priemonė, ypač replikacijos nekompetentingų adenovirusų gamybai, amplifikavimui ir titravimui. Šios ląstelės pasižymi plokščia morfologija, kuri labai palengvina mikroskopinio tyrimo ir titravimo procesus, todėl paprasčiau suskaičiuoti ir įvertinti viruso daleles.

Pagrindinė HEK293A ląstelių linijos savybė yra stabili adenoviruso E1 geno integracija į jos genomą. Ši integracija yra labai svarbi, nes ji užtikrina transkripcijos mechanizmą, būtiną E1 baltymų, ypač E1a ir E1b, raiškai. Šių baltymų buvimas yra būtinas adenovirusinių vektorių replikacijai ląstelėje. E1a baltymas pirmiausia atlieka adenoviruso genomo transkripcijos aktyvavimo funkciją, o E1b baltymai dalyvauja viruso replikacijoje ir ląstelių ciklo sutrikdytume.

HEK293A ląstelės naudingos ne tik virusų replikacijai palaikyti. Šios ląstelės palengvina veiksmingą didelio titro aukštos kokybės virusinių preparatų, kurie būtini tiek pagrindiniams tyrimams, tiek gydymui, gamybą. Ląstelių linija pasižymi dideliu replikacijos pajėgumu ir lengvu tvarkymu, todėl tyrėjai gali beprecedenčio tikslumo ir efektyvumo tikrinti ir kurti adenovirusines konstrukcijas.

Apibendrinant galima teigti, kad HEK293A ląstelių linija yra nepakeičiamas šaltinis virusologijos ir genų terapijos srityje. Jos gebėjimas stabiliai ekspresuoti E1 baltymus ir palaikyti adenovirusinę replikaciją daro ją vertinga priemone mokslininkams, norintiems gaminti adenovirusinius vektorius ir jais manipuliuoti. Ląstelių linijos savybės leidžia efektyviai kurti virusinius vektorius, kurie yra labai svarbūs mokslinių tyrimų ir galimų terapinių intervencijų pažangai.

Organism Žmogus

Tissue Embrioninis inkstas

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

Charakteristikos

Age Vaisius

Gender Moteris

Morphology Epitelis

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation HEK293A (Cytion katalogo numeris 305070)

HEK293A ląstelės | 305070

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6910**GMO Status** GMO-S1: Ši HEK293A ląstelių linija yra genetiškai modifikuota, į ją įterptas Simian Virus 40 (SV40) virusas, kuris užtikrina geresnį transfekcijos efektyvumą ir ląstelių proliferaciją. Genetinis konstruktas yra stabiliai integruotas į embrionines inkstų ląsteles. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.**Biomolekuliniai duomenys****Tvarkymas****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HEK293A ląstelės | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HEK293A ląstelės | 305070

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.