

HEK293A šūnas | 305070

Vispārīga informācija

Description

HEK293A šūnu līnija, kas ir cilvēka embrionālo nieru 293 (HEK293) šūnu atvasinājums, ir specializēts rīks virusoloģijas un gēnu terapijas pētījumos, jo īpaši replikācijas ziņā nekompetento adenovīrusu ražošanā, pavairošanā un titrēšanā. Šīm šūnām piemīt plakana morfoloģija, kas ievērojami atvieglo mikroskopiskās pārbaudes un titrēšanas procesus, padarot vienkāršāku vīrusu daļiņu skaitīšanu un novērtēšanu.

HEK293A šūnu līnijas galvenā iezīme ir stabila adenovīrusa E1 gēna integrācija tās genomā. Šai integrācijai ir izšķiroša nozīme, jo tā nodrošina nepieciešamo transkripcijas mehānismu E1 proteīnu, īpaši E1a un E1b, ekspresijai. Šo proteīnu klātbūtne ir būtiska adenovīrusu vektoru replikācijai šūnā. E1a olbaltumvielas galvenokārt aktivizē adenovīrusa genoma transkripciju, savukārt E1b olbaltumvielas ir iesaistītas vīrusa replikācijā un šūnu cikla pārtraukšanā.

HEK293A šūnu lietderība sniedzas tālāk par vīrusu replikācijas atbalstu. Šīs šūnas atvieglo efektīvu augsta titra augstas kvalitātes vīrusu preparātu ražošanu, kas ir būtiski gan fundamentāliem pētījumiem, gan terapeitiskiem lietojumiem. Šūnu līnijas spēcīgā replikācijas spēja un vieglā apstrāde ļauj pētniekiem veikt skrīningu un izstrādāt adenovīrusu konstrukcijas ar vēl nebijušu precizitāti un efektivitāti.

Kopumā HEK293A šūnu līnija ir neaizstājams resurss virusoloģijas un gēnu terapijas jomā. Tās spēja stabili ekspresēt E1 proteīnus un atbalstīt adenovīrusu replikāciju padara to par vērtīgu rīku pētniekiem, kas vēlas ražot un manipulēt ar adenovīrusu vektoriem. Šūnu līnijas īpašības ļauj efektīvi ģenerēt vīrusu vektorus, kas ir ļoti svarīgi pētniecības un potenciālo terapeitisko ieviešanu attīstībai.

Organism Cilvēks

Tissue Embrionālā niere

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

Raksturojums

Age Auglis

Gender Sievietes

Morphology Epitēlija

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation HEK293A (Cytion kataloga numurs 305070)

HEK293A šūnas | 305070

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6910**GMO Status** GMO-S1: Šī HEK293A šūnu līnija satur Simian Virus 40 (SV40) gēnu, kas veicina labāku transfekcijas efektivitāti un šūnu vairošanos. Konstrukts ir stabili integrēts embrionālajās nieru šūnās. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HEK293A šūnas | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HEK293A šūnas | 305070

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.