

HEK293A-cellen | 305070

Algemene informatie

Description

De HEK293A cellijn, een afgeleide van de menselijke embryonale nier 293 (HEK293) cellen, vertegenwoordigt een gespecialiseerd hulpmiddel in virologisch en genterapie onderzoek, met name in de productie, amplificatie en titratie van replicatie-incompetente adenovirussen. Deze cellen hebben een vlakke morfologie, wat aanzienlijk helpt bij microscopisch onderzoek en titratieprocessen, waardoor het eenvoudiger is om virale deeltjes te tellen en te beoordelen.

Een cruciale eigenschap van de HEK293A cellijn is de stabiele integratie van het adenovirus E1 gen in het genoom. Deze integratie is cruciaal omdat het de noodzakelijke transcriptionele machinerie levert voor de expressie van E1-eiwitten, specifiek E1a en E1b. De aanwezigheid van deze eiwitten is essentieel voor de replicatie van adenovirale vectoren in de cel. Het E1a-eiwit activeert voornamelijk de transcriptie van het adenovirusgenoom, terwijl E1b-eiwitten betrokken zijn bij virale replicatie en verstoring van de celcyclus.

Het nut van HEK293A cellen gaat verder dan alleen het ondersteunen van virale replicatie. Deze cellen vergemakkelijken de efficiënte productie van virale preparaten met een hoge titer en van hoge kwaliteit, die essentieel zijn voor zowel fundamenteel onderzoek als therapeutische toepassingen. De robuuste replicatiecapaciteit van de cellijn en de eenvoudige hanteerbaarheid stellen onderzoekers in staat om adenovirale constructen te screenen en te ontwikkelen met ongekende precisie en efficiëntie.

Samengevat is de HEK293A cellijn een onmisbare bron op het gebied van virologie en genterapie. Het vermogen om E1-eiwitten stabiel tot expressie te brengen en adenovirale replicatie te ondersteunen maakt het een waardevol hulpmiddel voor onderzoekers die adenovirale vectoren willen produceren en manipuleren. De eigenschappen van de cellijn maken een efficiënte generatie van virale vectoren mogelijk, wat cruciaal is voor het bevorderen van onderzoek en mogelijke therapeutische interventies.

Organism Mens

Tissue Embryonale nier

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

Kenmerken

Age Foetus

Gender Vrouw

Morphology Epitheel

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

HEK293A-cellen | 305070

Citation	HEK293A (Cytion catalogusnummer 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: Deze HEK293A-cel lijn bevat SV40 (Simian Virus 40), wat zorgt voor een betere transfectie en celproliferatie. Het construct is stabiel geïntegreerd in embryonale niercellen. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	1:3 tot 1:5
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HEK293A-cellen | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HEK293A-cellen | 305070

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12,12
D13S317: 12,14
D16S539: 9,13
D5S818: 8,8
D7S820: 11,12
TH01: 7,9.3
TPOX: 11,11
vWA: 16,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 28,30.2
D18S51: 17,18
Penta E: 7,15
Penta D: 9,10
D8S1179: 12,12
FGA: 23,23
D6S1043: 11,11
D2S1338: 19,19
D12S391: 19,21
D19S433: 15,18