

HEK293A-celler | 305070

Generell informasjon

Description

HEK293A-cellelinjen, som er et derivat av de humane embryonale 293-cellene (HEK293), er et spesialisert verktøy i virologisk og genterapeutisk forskning, særlig når det gjelder produksjon, amplifisering og titrering av replikasjonsinkompetente adenovirus. Disse cellene har en flat morfologi, noe som er til stor hjelp i mikroskopiske undersøkelser og titreringsprosesser, og som gjør det enklere å telle og vurdere viruspartikler.

Et sentralt trekk ved HEK293A-cellelinjen er den stabile integrasjonen av adenovirus E1-genet i genomet. Denne integrasjonen er kritisk, ettersom den gir det nødvendige transkripsjonsmaskineriet for uttrykk av E1-proteiner, spesielt E1a og E1b. Tilstedeværelsen av disse proteinene er avgjørende for replikasjonen av adenovirusvektorer i cellen. E1a-proteinet aktiverer først og fremst transkripsjonen av adenovirusgenomet, mens E1b-proteiner er involvert i virusreplikasjon og forstyrrelse av cellesyklusen.

HEK293A-celler kan brukes til mer enn bare å støtte virusreplikasjon. Disse cellene muliggjør effektiv produksjon av viruspreparater med høy titer og høy kvalitet, noe som er avgjørende for både grunnforskning og terapeutiske anvendelser. Cellelinjens robuste replikasjonskapasitet og enkle håndtering gjør det mulig for forskere å screene og utvikle adenovirale konstruksjoner med enestående presisjon og effektivitet.

HEK293A-cellelinjen er en uunnværlig ressurs innen virologi og genterapi. Cellelinjens evne til å uttrykke E1-proteiner stabilt og støtte adenoviral replikasjon gjør den til et verdifullt verktøy for forskere som ønsker å produsere og manipulere adenovirale vektorer. Cellelinjens egenskaper gjør det mulig å generere virale vektorer på en effektiv måte, noe som er avgjørende for å fremme forskning og potensielle terapeutiske intervensjoner.

Organism

Menneskelig

Tissue

Embryonal nyre

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

Foster

Gender

Kvinne

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HEK293A (Cytion katalognummer 305070)

HEK293A-celler | 305070

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6910**GMO Status** GMO-S1: Denne HEK293A-cellelinjen inneholder SV40 fra Simian Virus 40, noe som bidrar til forbedret transfeksjonsytelse og celleproliferasjon. Konstruktet er stabilt integrert i embryonale nyreceller. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan avvike andre steder.**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1:3 til 1:5**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HEK293A-celler | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HEK293A-celler | 305070

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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