

Bunky HEK293A | 305070**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HEK293A, derivát buniek ľudskej embryonálnej obličky 293 (HEK293), predstavuje špecializovaný nástroj vo virologickom výskume a výskume génovej terapie, najmä pri produkcii, amplifikácii a titracii replikačne nekompetentných adenovírusov. Tieto bunky vykazujú plochú morfológiu, ktorá výrazne napomáha mikroskopickému skúmaniu a titračným procesom, čo zjednodušuje počítanie a hodnotenie vírusových častíc.

Kľúčovou vlastnosťou bunkovej línie HEK293A je stabilná integrácia adenovírusového génu E1 do jej genómu. Táto integrácia je rozhodujúca, pretože poskytuje potrebný transkripčný mechanizmus na expresiu proteínov E1, konkrétne E1a a E1b. Prítomnosť týchto proteínov je nevyhnutná pre replikáciu adenovírusových vektorov v bunke. Proteín E1a funguje predovšetkým na aktiváciu transkripcie adenovírusového genómu, zatiaľ čo proteíny E1b sa podieľajú na vírusovej replikácii a narušení bunkového cyklu.

Užitočnosť buniek HEK293A presahuje rámec jednoduchej podpory vírusovej replikácie. Tieto bunky uľahčujú efektívnu produkciu vysoko titrovaných, vysokokvalitných vírusových prípravkov, ktoré sú nevyhnutné pre základný výskum aj terapeutické aplikácie. Robustná replikačná kapacita bunkovej línie a jednoduchá manipulácia umožňujú výskumníkom vykonávať skrining a vyvíjať adenovírusové konštrukty s bezprecedentnou presnosťou a účinnosťou.

Celkovo je bunková línia HEK293A nenahraditeľným zdrojom v oblasti virológie a génovej terapie. Jej schopnosť stabilne exprimovať proteíny E1 a podporovať replikáciu adenovírusov z nej robí cenný nástroj pre výskumníkov, ktorí chcú vyrábať a manipulovať s adenovírusovými vektormi. Vlastnosti bunkovej línie umožňujú efektívne vytváranie vírusových vektorov, ktoré sú kľúčové pre pokrok vo výskume a potenciálne terapeutické zásahy.

Organism Ľudské**Tissue** Embryonálna oblička**Synonyms** HEK-293A, HEK293A, HEK 293A, HEK293-A, QBI-HEK 293A, QBI-293A**Charakteristika****Age** Plod**Gender** Ženy**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HEK293A (katalógové číslo Cytion 305070)

Bunky HEK293A | 305070**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6910**GMO Status** GMO-S1: Táto bunková línia HEK293A obsahuje vírus SV40 (Simian Virus 40), čo prispieva k lepšej transfekčnej účinnosti a proliferácii. Konštrukt je stabilne integrovaný do embryonálnych obličkových buniek. Toto zaradenie platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HEK293A | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HEK293A | 305070

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.