

Celice HEK293A | 305070

Splošne informacije

Description

Celična linija HEK293A, ki je izpeljanka celic človeške embrionalne ledvice 293 (HEK293), je specializirano orodje v viroloških raziskavah in raziskavah genskega zdravljenja, zlasti pri proizvodnji, pomnoževanju in titraciji adenovirusov, ki niso sposobni replikacije. Te celice imajo ravno morfologijo, kar bistveno olajša mikroskopsko pregledovanje in titracijo ter poenostavi štetje in ocenjevanje virusnih delcev.

Ključna značilnost celične linije HEK293A je stabilna integracija gena E1 adenovirusa v njen genom. Ta integracija je ključnega pomena, saj zagotavlja potrebne transkripcijske mehanizme za izražanje beljakovin E1, zlasti E1a in E1b. Prisotnost teh beljakovin je bistvena za razmnoževanje adenovirusnih vektorjev v celici. Beljakovina E1a predvsem aktivira transkripcijo adenovirusnega genoma, medtem ko so beljakovine E1b vključene v virusno replikacijo in prekinitev celičnega cikla.

Uporabnost celic HEK293A presega zgolj podporo virusni replikaciji. Te celice omogočajo učinkovito proizvodnjo visoko titrskih, visokokakovostnih virusnih pripravkov, ki so bistveni za temeljne raziskave in terapevtske aplikacije. Robustna sposobnost replikacije celične linije in enostavnost rokovanja omogočata raziskovalcem, da pregledajo in razvijejo adenovirusne konstrukcije z natančnostjo in učinkovitostjo brez primere.

Če povzamemo, je celična linija HEK293A nepogrešljiv vir na področju virologije in genskega zdravljenja. Zaradi svoje sposobnosti stabilnega izražanja beljakovin E1 in podpore adenovirusni replikaciji je dragoceno orodje za raziskovalce, ki želijo proizvajati adenovirusne vektorje in z njimi manipulirati. Lastnosti celične linije omogočajo učinkovito proizvodnjo virusnih vektorjev, kar je ključnega pomena za napredovanje raziskav in morebitnih terapevtskih posegov.

Organism Človek

Tissue Embrionalna ledvica

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

Značilnosti

Age Plod

Gender Ženske

Morphology Epitelijski

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation HEK293A (kataloška številka Cytion 305070)

Celice HEK293A | 305070

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6910**GMO Status** GMO-S1: Ta celična linija HEK293A vsebuje virus SV40 (Simian Virus 40), kar omogoča boljšo učinkovitost transfekcije in hitrejšo proliferacijo. Konstrukt je stabilno vgrajen v embrionalne ledvične celice. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice HEK293A | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice HEK293A | 305070

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.