

Buňky HEK293A | 305070

Obecné informace

Description

Buněčná linie HEK293A, derivát buněk lidské embryonální ledviny 293 (HEK293), představuje specializovaný nástroj ve virologickém výzkumu a výzkumu genové terapie, zejména při produkci, amplifikaci a titraci replikačně nekompetentních adenovirů. Tyto buňky vykazují plochou morfologii, která významně napomáhá mikroskopickému zkoumání a titraci a usnadňuje počítání a hodnocení virových částic.

Klíčovou vlastností buněčné linie HEK293A je stabilní integrace genu E1 adenoviru do jejího genomu. Tato integrace má zásadní význam, protože poskytuje nezbytný transkripční mechanismus pro expresi proteinů E1, konkrétně E1a a E1b. Přítomnost těchto proteinů je nezbytná pro replikaci adenovirových vektorů v buňce. Protein E1a funguje především při aktivaci transkripce adenovirového genomu, zatímco proteiny E1b se podílejí na virové replikaci a narušení buněčného cyklu.

Využitelnost buněk HEK293A přesahuje pouhou podporu virové replikace. Tyto buňky usnadňují účinnou produkci vysoce kvalitních virových preparátů ve vysokém titru, které jsou nezbytné jak pro základní výzkum, tak pro terapeutické aplikace. Robustní replikační kapacita buněčné linie a snadná manipulace s ní umožňují výzkumným pracovníkům provádět screening a vyvíjet adenovirové konstrukty s nebývalou přesností a účinností.

Lze shrnout, že buněčná linie HEK293A je nepostradatelným zdrojem v oblasti virologie a genové terapie. Její schopnost stabilně exprimovat proteiny E1 a podporovat replikaci adenovirů z ní činí cenný nástroj pro výzkumníky, kteří chtějí vyrábět a manipulovat s adenovirovými vektory. Vlastnosti buněčné linie umožňují efektivní generování virových vektorů, což je zásadní pro pokrok ve výzkumu a potenciální terapeutické zásahy.

Organism Člověk**Tissue** Embryonální ledvina**Synonyms** HEK-293A, HEK293A, HEK 293A, HEK293-A, QBI-HEK 293A, QBI-293A

Charakteristika

Age Plod**Gender** Ženy**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherentní

Regulační údaje

Citation HEK293A (katalogové číslo Cytion 305070)

Buňky HEK293A | 305070

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6910

GMO Status GMO-S1: Tato buněčná linie HEK293A obsahuje sekvence velkého T antigenu SV40 ze Simian Virus 40, což podporuje lepší transfekční výkon a proliferaci. Konstrukt je stabilně integrován do embryonálních buněk ledvin. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

Supplements Doplněte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustěte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio 1:3 až 1:5

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HEK293A | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HEK293A | 305070**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

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