

HEK293A-Zellen | 305070

Allgemeine Informationen

Description

Die HEK293A-Zelllinie, ein Derivat der humanen embryonalen Nierenzellen 293 (HEK293), ist ein spezielles Werkzeug für die virologische und gentherapeutische Forschung, insbesondere für die Produktion, Amplifikation und Titration replikationsinkompetenter Adenoviren. Diese Zellen weisen eine flache Morphologie auf, was die mikroskopische Untersuchung und Titration erheblich erleichtert und die Zählung und Bewertung der Viruspartikel vereinfacht.

Ein entscheidendes Merkmal der HEK293A-Zelllinie ist die stabile Integration des Adenovirus-E1-Gens in ihr Genom. Diese Integration ist entscheidend, da sie die notwendige Transkriptionsmaschinerie für die Expression der E1-Proteine, insbesondere E1a und E1b, bereitstellt. Das Vorhandensein dieser Proteine ist für die Replikation der adenoviralen Vektoren in der Zelle unerlässlich. Das E1a-Protein dient in erster Linie der Aktivierung der Transkription des Adenovirus-Genoms, während die E1b-Proteine an der viralen Replikation und der Unterbrechung des Zellzyklus beteiligt sind.

Der Nutzen von HEK293A-Zellen geht über die bloße Unterstützung der viralen Replikation hinaus. Diese Zellen ermöglichen die effiziente Herstellung von hochtitrigen, qualitativ hochwertigen Viruspräparaten, die sowohl für die Grundlagenforschung als auch für therapeutische Anwendungen unerlässlich sind. Die robuste Replikationskapazität und die einfache Handhabung der Zelllinie ermöglichen es den Forschern, adenovirale Konstrukte mit bisher unerreichter Präzision und Effizienz zu screenen und zu entwickeln.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die HEK293A-Zelllinie eine unverzichtbare Ressource auf dem Gebiet der Virologie und Gentherapie darstellt. Ihre Fähigkeit, E1-Proteine stabil zu exprimieren und die Replikation von Adenoviren zu unterstützen, macht sie zu einem wertvollen Werkzeug für Forscher, die adenovirale Vektoren herstellen und manipulieren wollen. Die Eigenschaften der Zelllinie ermöglichen die effiziente Generierung viraler Vektoren, die für die Weiterentwicklung der Forschung und potenzieller therapeutischer Interventionen von entscheidender Bedeutung sind.

Organism Menschen

Tissue Embryonale Niere

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

Merkmale

Age Fötus

Gender Weiblich

Morphology Epithelial

Growth properties Adhärenz

HEK293A-Zellen | 305070

Regulatorische Daten

Citation	HEK293A (Cytion-Katalognummer 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: Diese HEK293A-Zelllinie enthält SV40 Large T Antigen-Sequenzen aus dem Simian Virus 40, die eine verbesserte Transfektionsleistung und Proliferation unterstützen. Das Konstrukt ist stabil in embryonale Nierenzellen integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	1:3 bis 1:5
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HEK293A-Zellen | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HEK293A-Zellen | 305070

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

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