

Κύτταρα HEK293A | 305070

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά HEK293A, παράγωγο των κυττάρων του ανθρώπινου εμβρυϊκού νεφρού 293 (HEK293), αποτελεί ένα εξειδικευμένο εργαλείο στην ιολογική έρευνα και τη γονιδιακή θεραπεία, ιδίως στην παραγωγή, την ενίσχυση και την τιτλοποίηση αναπαραγωγικά μη ικανών αδενοϊών. Τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν επίπεδη μορφολογία, η οποία βοηθά σημαντικά στις διαδικασίες μικροσκοπικής εξέτασης και τιτλοποίησης, καθιστώντας απλούστερη την καταμέτρηση και την αξιολόγηση των ιικών σωματιδίων.

Ένα βασικό χαρακτηριστικό της κυτταρικής σειράς HEK293A είναι η σταθερή ενσωμάτωση του γονιδίου E1 του αδενοϊού στο γονιδιώμά της. Η ενσωμάτωση αυτή είναι κρίσιμη, καθώς παρέχει τον απαραίτητο μεταγραφικό μηχανισμό για την έκφραση των πρωτεϊνών E1, συγκεκριμένα των E1α και E1β. Η παρουσία αυτών των πρωτεϊνών είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό των αδενοϊικών φορέων στο κύτταρο. Η πρωτεΐνη E1α λειτουργεί κυρίως για την ενεργοποίηση της μεταγραφής του γονιδιώματος του αδενοϊού, ενώ οι πρωτεΐνες E1β εμπλέκονται στην αντιγραφή του ιού και στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου.

Η χρησιμότητα των κυττάρων HEK293A εκτείνεται πέρα από την απλή υποστήριξη της αντιγραφής των ιών. Τα κύτταρα αυτά διευκολύνουν την αποτελεσματική παραγωγή ιικών παρασκευασμάτων υψηλού τίτλου, υψηλής ποιότητας, απαραίτητων τόσο για τη βασική έρευνα όσο και για θεραπευτικές εφαρμογές. Η ισχυρή ικανότητα αντιγραφής της κυτταρικής σειράς και η ευκολία χειρισμού της επιτρέπουν στους ερευνητές να ελέγχουν και να αναπτύσσουν αδενοϊικές κατασκευές με πρωτοφανή ακρίβεια και αποτελεσματικότητα.

Συνοπτικά, η κυτταρική σειρά HEK293A είναι ένας απαραίτητος πόρος στον τομέα της ιολογίας και της γονιδιακής θεραπείας. Η ικανότητά της να εκφράζει σταθερά τις πρωτεΐνες E1 και να υποστηρίζει την αντιγραφή των αδενοϊών την καθιστά πολύτιμο εργαλείο για τους ερευνητές που επιθυμούν να παράγουν και να χειρίζονται αδενοϊικούς φορείς. Τα χαρακτηριστικά της κυτταρικής γραμμής επιτρέπουν την αποτελεσματική παραγωγή ιικών φορέων, ζωτικής σημασίας για την πρόωση της έρευνας και των πιθανών θεραπευτικών παρεμβάσεων.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Εμβρυϊκός νεφρός

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

Χαρακτηριστικά

Age Έμβρυο

Gender Γυναίκα

Morphology Επιθηλιακό

Growth properties Προσκολλημένο

Κύτταρα HEK293A | 305070

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HEK293A (αριθμός καταλόγου Cytion 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά HEK293A περιέχει αλληλουχίες μεγάλου αντιγόνου SV40 Large T από τον ιό Simian Virus 40, υποστηρίζοντας βελτιωμένη απόδοση διαμόλυνσης και πολλαπλασιασμό. Το κατασκεύασμα ενσωματώνεται σταθερά σε εμβρυικά νεφρικά κύτταρα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HEK293A | 305070**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HEK293A | 305070

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Η αποθήκευση στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.