

HEK293A rakud | 305070

Üldine teave

Description

HEK293A rakuliin, mis on inimese embrüonaalse neeru 293 (HEK293) rakkude derivaat, on spetsiaalne vahend viroloogilistes ja geeniteraapia uuringutes, eriti replikatsioonikompetentsete adenoviiruste tootmisel, amplifitseerimisel ja tiitrimisel. Nendel rakkudel on lame morfoloogia, mis aitab oluliselt kaasa mikroskoopilisele uurimisele ja tiitrimisprotsessile, muutes viiruseosakeste loendamise ja hindamise lihtsamaks.

HEK293A rakuliini keskne omadus on adenoviiruse E1 geeni stabiilne integreerimine selle genoomi. See integratsioon on kriitilise tähtsusega, kuna see tagab E1 valkude, eriti E1a ja E1b, ekspressiooniks vajaliku transkriptsioonimehhanismi. Nende valkude olemasolu on oluline adenoviirusvektorite replikatsiooniks rakus. E1a valk toimib peamiselt adenoviiruse genoomi transkriptsiooni aktiveerimiseks, samal ajal kui E1b valgud osalevad viiruse replikatsioonis ja rakutsükli katkestamises.

HEK293A rakkude kasulikkus ulatub kaugemale kui ainult viiruse replikatsiooni toetamine. Need rakud hõlbustavad kõrgete tiitrite ja kvaliteetsete viiruspreparaatide tõhusat tootmist, mis on olulised nii alusuuringute kui ka terapeutiliste rakenduste jaoks. Rakuliini tugev replikatsioonivõime ja lihtne käsitlemine võimaldavad teadlastel sõeluda ja arendada adenoviiruskonstruktsioone enneolematu täpsuse ja tõhususega.

Kokkuvõttes on HEK293A rakuliin asendamatu ressurss viroloogia ja geeniteraapia valdkonnas. Selle võime stabiilselt ekspresseerida E1 valke ja toetada adenoviiruse replikatsiooni muudab selle väärtuslikuks vahendiks teadlastele, kes soovivad toota ja manipuleerida adenoviirusvektoreid. Rakuliini omadused võimaldavad tõhusalt genereerida viirusvektoreid, mis on teadusuuringute ja võimalike terapeutiliste sekkumiste edendamiseks hädavajalikud.

Organism Inimene

Tissue Embrüonaalne neer

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

Omadused

Age Loote

Gender Naised

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

HEK293A rakud | 305070

Citation	HEK293A (Cytioni katalooginumber 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: See HEK293A rakuliin sisaldab SV40 Large T antigeeni sekventsidi Simian Virus 40-st, mis toetavad täiustatud transfektsiooni jõudlust ja proliferatsiooni. Konstruktsioon on stabiilselt integreeritud embrüonaalsetesse neerurakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüsäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HEK293A rakud | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HEK293A rakud | 305070

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.