

Cellule HEK293A | 305070

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HEK293A, un derivato delle cellule del rene embrionale umano 293 (HEK293), rappresenta uno strumento specializzato nella ricerca virologica e di terapia genica, in particolare per la produzione, l'amplificazione e la titolazione di adenovirus incompetenti alla replicazione. Queste cellule presentano una morfologia piatta, che facilita notevolmente l'esame microscopico e i processi di titolazione, rendendo più semplice il conteggio e la valutazione delle particelle virali.

Una caratteristica fondamentale della linea cellulare HEK293A è l'integrazione stabile del gene E1 dell'adenovirus nel suo genoma. Questa integrazione è fondamentale perché fornisce il macchinario trascrizionale necessario per l'espressione delle proteine E1, in particolare E1a ed E1b. La presenza di queste proteine è essenziale per la replicazione dei vettori adenovirali nella cellula. La proteina E1a funziona principalmente per attivare la trascrizione del genoma dell'adenovirus, mentre le proteine E1b sono coinvolte nella replicazione virale e nell'interruzione del ciclo cellulare.

L'utilità delle cellule HEK293A va oltre il semplice supporto alla replicazione virale. Queste cellule facilitano la produzione efficiente di preparati virali ad alto titolo e di alta qualità, essenziali sia per la ricerca di base che per le applicazioni terapeutiche. La robusta capacità di replicazione e la facilità di manipolazione di questa linea cellulare permettono ai ricercatori di selezionare e sviluppare costrutti adenovirali con una precisione e un'efficienza senza precedenti.

In sintesi, la linea cellulare HEK293A è una risorsa indispensabile nel campo della virologia e della terapia genica. La sua capacità di esprimere stabilmente le proteine E1 e di supportare la replicazione adenovirale la rende uno strumento prezioso per i ricercatori che vogliono produrre e manipolare vettori adenovirali. Le caratteristiche della linea cellulare consentono di generare in modo efficiente vettori virali, fondamentali per il progresso della ricerca e per potenziali interventi terapeutici.

Organism

Umano

Tissue

Rene embrionale

Synonyms

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

Caratteristiche

Age

Feto

Gender

Donna

Morphology

Epiteliale

Growth properties

Aderente

Cellule HEK293A | 305070

Dati normativi

Citation	HEK293A (catalogo Cytion numero 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: questa linea cellulare HEK293A contiene sequenze dell'antigene SV40 Large T del Simian Virus 40, che consentono di migliorare le prestazioni di trasfezione e la proliferazione. Il costrutto è integrato in modo stabile in cellule renali embrionali. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, rispendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	da 1:3 a 1:5
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HEK293A | 305070

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HEK293A | 305070**Shipping
Conditions**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Storage
Conditions**

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA**Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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