

Komórki HEK293A | 305070

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HEK293A, pochodna ludzkich embrionalnych komórek nerkowych 293 (HEK293), stanowi wyspecjalizowane narzędzie w badaniach wirusologicznych i terapii genowej, w szczególności w produkcji, amplifikacji i miareczkowaniu adenowirusów niekompetentnych replikacyjnie. Komórki te wykazują płaską morfologię, co znacznie pomaga w badaniu mikroskopowym i procesach miareczkowania, ułatwiając liczenie i ocenę cząstek wirusowych.

Kluczową cechą linii komórkowej HEK293A jest stabilna integracja genu adenowirusa E1 z jej genomem. Integracja ta ma kluczowe znaczenie, ponieważ zapewnia niezbędną maszynę transkrypcyjną do ekspresji białek E1, w szczególności E1a i E1b. Obecność tych białek jest niezbędna do replikacji wektorów adenowirusowych w komórce. Białko E1a działa głównie w celu aktywacji transkrypcji genomu adenowirusa, podczas gdy białko E1b są zaangażowane w replikację wirusa i zakłócenie cyklu komórkowego.

Użyteczność komórek HEK293A wykracza poza zwykłe wspieranie replikacji wirusów. Komórki te ułatwiają wydajną produkcję wysokiej jakości preparatów wirusowych o wysokim mianie, niezbędnych zarówno do badań podstawowych, jak i zastosowań terapeutycznych. Solidna zdolność replikacyjna linii komórkowej i łatwość obsługi umożliwiają badaczom przesiewanie i opracowywanie konstruktów adenowirusowych z niespotykaną dotąd precyzją i wydajnością.

Podsumowując, linia komórkowa HEK293A jest niezbędnym zasobem w dziedzinie wirusologii i terapii genowej. Jej zdolność do stabilnej ekspresji białek E1 i wspierania replikacji adenowirusów czyni ją cennym narzędziem dla naukowców chcących produkować i manipulować wektorami adenowirusowymi. Charakterystyka linii komórkowej pozwala na wydajne generowanie wektorów wirusowych, co ma kluczowe znaczenie dla postępu badań i potencjalnych interwencji terapeutycznych.

Organism Człowiek

Tissue Nerka embrionalna

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

Charakterystyka

Age Płód

Gender Kobieta

Morphology Nabłonek

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Komórki HEK293A | 305070

Citation	HEK293A (numer katalogowy Cytion 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa HEK293A zawiera sekwencje antygeny SV40 Large T z wirusa Simian Virus 40, co zwiększa wydajność transfekcji i proliferacji. Konstrukt jest stabilnie zintegrowany z embrionalnymi komórkami nerki. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1:3 do 1:5
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HEK293A | 305070

Thawing and
Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation
Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing
Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HEK293A | 305070**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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