

Buňky HEK293T | 300189

Obecné informace

Description

HEK 293T, vysoce transfektabilní derivát rodičovské buňky HEK 293, je všestranným a výkonným nástrojem v oblasti biotechnologií pro výrobu rekombinantních proteinů a různých typů vakcín.

Buňky HEK 293T byly vytvořeny transfekcí buněk embryonální ledviny 293 plazmidem kódujícím velký T antigen SV40. Původní buněčná linie HEK293 byla vyvinuta z epitelálních buněk tkáně lidské embryonální ledviny, přičemž k její transformaci došlo při 293. experimentu, který vědci provedli.

V oblasti vývoje vakcín jsou buňky embryonální ledviny 293T klíčové pro produkci virových vektorů, včetně adenovirových vektorů. Buňky HEK293T jsou za specifických kultivačních podmínek transfekovány vektory nesoucími adenovirové a retrovirové prvky, včetně původu replikace SV40, což vede k produkci částic podobných virům (VLP).

VLP, zbavené virového genetického materiálu, jsou klíčové pro vytvoření základu subjednotkových vakcín a vakcín založených na VLP. Produkci rekombinantních proteinů v buňkách 293T usnadňují různé transfekční metody s důrazem na tvorbu fúzních proteinů AP a dalších typů proteinů, které tvoří antigenní složku vakcín.

Schopnosti genomového inženýrství buněčné linie 293T umožňují přizpůsobení expresních konstruktů, což dále zvyšuje produkci virových vektorů. To spolu se schopností produkovat proteiny v suspenzní kultuře nebo v adherentních podmínkách činí z buněčné linie 293T komplexní řešení pro moderní vývoj vakcín.

Organism

Člověk

Tissue

Ledviny

Applications

Vývoj vakcín

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Human Embryonic Kidney 293T, 293tsA1609neo

Charakteristika

Age

Plod

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Buňky HEK293T | 300189

Citation	HEK293T (katalogové číslo Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie HEK293T obsahuje sekvenční velkého antigenu SV40, což podporuje vysokou úroveň exprese transfekovaných plazmidů a účinné balení virů. Konstrukt je integrován do buněk lidských embryonálních ledvin. Tato klasifikace platí pouze v Německu a může se lišit v jiných zemích

Biomolekulární data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA negativní, p53 pozitivní
Tumorigenic	U nahých myší

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4

Buňky HEK293T | 300189

Seeding density 1×10^4 buněk/cm² vytvoří konfluentní vrstvu za přibližně 4 dny.

Fluid renewal 2krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Buňky HEK293T | 300189

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,13,14
D16S539: 9,13
D5S818: 8,9
D7S820: 11
TH01: 7,9,3
TPOX: 11
vWA: 16,18,19,20
D3S1358: 15,16,17,18
D21S11: 28,30,2
D18S51: 17,18
Penta E: 7,15
Penta D: 9,10
D8S1179: 11,12,13,14
FGA: 22,23
D2S1338: 19
D19S433: 18
PEZ6: EB1