

HEK293T/17 rakud | 305117

Üldine teave

Description

Rakuliin 293T/17 on inimese embrüonaalsetest neerurakkudest saadud HEK293 rakuliini immortaliseeritud variant, mida kasutatakse laialdaselt teadusuuringutes, eelkõige retroviiruslike ja lentiviirusvektorite uurimisel ja tootmisel. Seda rakuliini on modifitseeritud, et see ekspresseeriks SV40 suurt T-antigeeni, mis suurendab selle kasutatavust viirusvektorite tootmisel. SV40 suure T-antigeeni ekspressioon on peamine omadus, mis võimaldab neil rakkudel replitseerida SV40 replikatsiooni algupära sisaldavaid plasmide, suurendades oluliselt plasmid-DNA saagist transientse transfektsiooni protseduuride puhul. See omadus on eriti kasulik viirusvektorite tootmisel.

293T/17 rakud on olulised selliste viirusvektorite nagu retroviirused ja lentiviirused tootmisel. Nad toodavad tõhusalt viiruslikke osakesi tänu oma võimele amplifitseerida transfecteeritud plasmide ning toetada viiruse kokkupanekut ja vabanemist. See muudab nad oluliseks vahendiks geeniteraapiauuringutes, kus neid vektoreid kasutatakse geneetilise materjali viimiseks peremeesrakkudesse. Rakkudel on kõrge transfektsioonitõhusus, mis on oluline võõra DNA edukaks sissetoomiseks ja ekspressiooniks vektorite ehitamise ajal. See kõrge tõhusus võimaldab tõhusalt uurida geenide funktsiooni ja luua rekombinantseid valke.

Rakuliini 293T/17 tugevad omadused muudavad selle asendamatuks nii teaduslikes alusuuringutes kui ka terapeutilistes rakendustes. Seda kasutatakse laialdaselt molekulaarbioloogias ja geenitehnoloogias valkude ekspressiooniks, geenifunktsiooni analüüsiks ja uute geeniteraapiate väljatöötamiseks. Rakuliini tõhusus viirusvektorite tootmisel hõlbustab geneetilise materjali edastamist nõudvaid katseid, mis teeb sellest viroloogia valdkonna nurgakivi. Rakuliinil 293T/17 on jätkuvalt keskne roll geenifunktsiooni mõistmisel ja terapeutiliste sekkumiste väljatöötamisel.

Organism

Inimene

Tissue

Embrüonaalne neer

Applications

See rakuliin on optimaalne valik transfektsiooni, suure läbilaskevõimega sõeluuringute, toksikoloogia ja vaktsiinide väljatöötamise jaoks.

Synonyms

HEK293T/17, HEK-293T/17, HEK 293T/17

Omadused

Age

Loote

Gender

Naised

Morphology

Epiteel

Growth properties

Kinnipeetav

HEK293T/17 rakud | 305117

Regulatiivsed andmed

Citation	HEK293T/17 (Cytioni katalooginumber 305117)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1926
GMO Status	GMO-S1: See HEK293T/17 rakuliin sisaldab SV40 Large T antigeeni järjestusi, mis suurendavad plasmiidide replikatsiooni ja pakendamise tõhusust. Insert on transformeeritud embrüonaalsetes neerurakkudes stabiilselt olemas. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	SV40 T antigeen
Viruses	SV40 (väljendab SV40 T antigeeni)

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel 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

HEK293T/17 rakud | 305117

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena 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.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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 söötmeskkond 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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HEK293T/17 rakud | 305117

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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