

HEK293T/17-solut | 305117

Yleisiä tietoja

Description

293T/17-solulinja on ihmisen alkion munuaissoluista peräisin olevan HEK293-solulinjan kuolematon muunnos, jota käytetään laajasti tutkimuksessa, erityisesti retrovirus- ja lentiviraalivektoreiden tutkimuksessa ja tuotannossa. Tämä solulinja on muunnettu ilmentämään SV40 large T -antigeenia, mikä lisää sen käyttökelpoisuutta virusvektorien tuotannossa. SV40 large T -antigeenin ilmentyminen on keskeinen ominaisuus, jonka ansiosta nämä solut pystyvät replikoimaan plasmideja, jotka sisältävät SV40-replikaatioalkuperän, mikä lisää merkittävästi plasmidi-DNA:n saantoa ohimenevissä transfektiomenetelmissä. Tämä ominaisuus on erityisen hyödyllinen virusvektoreiden tuotannossa.

293T/17-solut ovat välttämättömiä virusvektoreiden, kuten retrovirusten ja lentivirusten, tuotannossa. Ne tuottavat tehokkaasti viruspartikkeleita, koska ne kykenevät monistamaan transfektoituja plasmideja ja tukemaan viruksen kokoamista ja vapautumista. Tämä tekee niistä elintärkeän työkalun geeniterapiatutkimuksessa, jossa näitä vektoreita käytetään geneettisen materiaalin siirtämiseen isäntäsoluihin. Soluilla on korkea transfektiotehokkuus, mikä on ratkaisevan tärkeää vieraan DNA:n onnistuneelle käyttöönotolle ja ilmentymiselle vektorin rakentamisen aikana. Tämä korkea tehokkuus mahdollistaa geenien toiminnan tutkimisen ja rekombinanttiproteiinien tuottamisen tehokkaasti.

293T/17-solulinjan vankat ominaisuudet tekevät siitä korvaamattoman arvokkaan sekä tieteelliseen perustutkimukseen että terapeuttisiin sovelluksiin. Sitä käytetään laajalti molekyylibiologiassa ja geeniteknikassa proteiinien ilmentämiseen, geenien toiminnan analysointiin ja uusien geeniterapioiden kehittämiseen. Solulinjan tehokkuus virusvektoreiden tuottamisessa helpottaa kokeita, joissa tarvitaan geneettisen materiaalin levittämistä, mikä tekee siitä virologian alan kulmakiven. 293T/17-solulinjalla on edelleen keskeinen rooli geenien toiminnan ymmärtämisessä ja terapeuttisten toimenpiteiden kehittämisessä.

Organism

Ihminen

Tissue

Alkion munuainen

Applications

Tämä solulinja on optimaalinen valinta transfekioon, korkean läpimenon seulontaan, toksikologiaan ja rokotekehitykseen.

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

Sikiö

Gender

Nainen

Morphology

Epiteeli

Growth properties

Tarttuva

HEK293T/17-solut | 305117

Säätelytiedot

Citation	HEK293T/17 (Cytionin luettelonumero 305117)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1926
GMO Status	GMO-S1: Tämä HEK293T/17-solulinja sisältää SV40 Large T -antigeenisekvenssejä, jotka parantavat plasmidien replikaatiota ja pakkaustehokkuutta. Insertti on pysyvästi läsnä muunnetuissa alkion munuaissoluissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression	SV40 T-antigeeni
Viruses	SV40 (ilmentää SV40 T-antigeenia)

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

HEK293T/17-solut | 305117**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

HEK293T/17-solut | 305117

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.