

HEK293T/17 sejtek | 305117

Általános információk

Description

A 293T/17 sejtvonal a HEK293 sejtvonal immortalizált változata, amely emberi embrionális vesesejtekből származik, és széles körben használják a kutatásban, különösen a retrovírusos és lentivírusos vektorok vizsgálatában és előállításában. Ezt a sejtvonalat úgy módosították, hogy kifejezze az SV40 nagy T antigént, ami növeli hasznosságát a vírusvektorok előállításában. Az SV40 nagy T antigén expressziója kulcsfontosságú tulajdonság, amely lehetővé teszi, hogy ezek a sejtek az SV40 replikációs eredetet tartalmazó plazmidokat replikálják, jelentősen növelve a plazmid DNS hozamát a tranziens transzfekciós eljárásokban. Ez a tulajdonság különösen előnyös a vírusvektorok előállítása szempontjából.

a 293T/17 sejtek nélkülözhetetlenek az olyan vírusvektorok előállításához, mint a retrovírusok és a lentivírusok. Hatékonyan termelnek vírusrészecskéket, mivel képesek a transzfektált plazmidok amplifikálására és a vírusösszeszerelés és -felszabadulás támogatására. Ez teszi őket létfontosságú eszközzé a génterápiás kutatásokban, ahol ezeket a vektorokat genetikai anyag gazdasejtekbe juttatására használják. A sejtek magas transzfekciós hatékonyságot mutatnak, ami döntő fontosságú az idegen DNS sikeres beviteléhez és expressziójához a vektorépítés során. Ez a nagy hatékonyság lehetővé teszi a génfunkció vizsgálatát és a rekombináns fehérjék hatékony előállítását.

A 293T/17 sejtvonal robusztus képességei felbecsülhetetlenné teszik mind a tudományos alapkutatásban, mind a terápiás alkalmazásokban. Széles körben használják a molekuláris biológiában és a géntechnológiában fehérjeexpresszióra, génfunkció-elemzésre és új génterápiák kifejlesztésére. A sejtvonal hatékonysága a vírusvektorok előállításában megkönnyíti a genetikai anyag szállítását igénylő kísérleteket, így a virológia egyik sarokköve. A 293T/17 sejtvonal továbbra is kulcsszerepet játszik a génműködés megértésében és a terápiás beavatkozások kifejlesztésében.

Organism

Emberi

Tissue

Embrionális vese

Applications

Ez a sejtvonal optimális választás transzfekcióhoz, nagy áteresztőképességű szűréshez, toxikológiához és vakcinafejlesztéshez.

Synonyms

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

Jellemzők

Age

Magzat

Gender

Női

Morphology

Epithelialis

Growth properties

Adherent

HEK293T/17 sejtek | 305117

Szabályozási adatok

Citation	HEK293T/17 (Cytion katalógusszám 305117)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1926
GMO Status	GMO-S1: Ez a HEK293T/17 sejtvonal SV40 Large T antigén szekvenciákat tartalmaz, ami fokozza a plazmid replikáció és a csomagolás hatékonyságát. Az inzert stabilan jelen van a transzformált embrionális vesesejtekben. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	SV40 T antigén
Viruses	SV40 (SV40 T antigént fejez ki)

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

HEK293T/17 sejtek | 305117

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

HEK293T/17 sejtek | 305117

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.