

HEK293T/17 ląstelės | 305117

Bendra informacija

Description

293T/17 ląstelių linija yra nemortizuotas HEK293 linijos variantas, gautas iš žmogaus embrioninių inkstų ląstelių ir plačiai naudojamas moksliniuose tyimuose, ypač tiriant ir gaminant retrovirusinius ir lentivirusinius vektorius. Ši ląstelių linija buvo modifikuota taip, kad ekspresuotų SV40 didįjį T antigeną, taip padidinant jos naudingumą virusinių vektorių gamyboje. SV40 didžiojo T antigeno raiška yra pagrindinė savybė, leidžianti šioms ląstelėms replikuoti plazmides, turinčias SV40 replikacijos pradžią, todėl gerokai padidėja plazmidinės DNR išeiga atliekant pereinamosios transfekcijos procedūras. Ši savybė ypač naudinga gaminant virusinius vektorius.

293T/17 ląstelės yra labai svarbios gaminant virusinius vektorius, pavyzdžiui, retrovirusus ir lentivirusus. Jos efektyviai gamina viruso daleles dėl savo gebėjimo amplifikuoti transfekcines plazmides ir palaikyti viruso surinkimą bei išsiskyrimą. Dėl to jie yra labai svarbus įrankis genų terapijos tyimuose, kuriuose šie vektoriai naudojami genetinei medžiagai pernešti į ląstelės šeiminkės ląsteles. Ląstelės pasižymi dideliu transfekcijos efektyvumu, kuris labai svarbus sėkmingam svetimos DNR įvedimui ir raiškai kuriant vektorius. Toks didelis efektyvumas leidžia veiksmingai tirti genų funkcijas ir gaminti rekombinantinius baltymus.

Dėl patikimų 293T/17 ląstelių linijos savybių ji yra neįkainojama tiek pagrindiniams moksliniams tyimams, tiek terapiniams taikymams. Ji plačiai naudojama molekulinėje biologijoje ir genų inžinerijoje baltymų raiškai, genų funkcijos analizei ir naujų genų terapijos metodų kūrimui. Ląstelių linijos efektyvumas gaminant virusinius vektorius palengvina eksperimentus, kuriuose reikia pristatyti genetinę medžiagą, todėl ji yra kertinis akmuo virusologijos srityje. 293T/17 ląstelių linija ir toliau atlieka svarbų vaidmenį gerinant supratimą apie genų funkciją ir kuriant terapines intervencijas.

Organism

Žmogus

Tissue

Embrioninis inkstas

Applications

Ši ląstelių linija yra optimalus pasirinkimas transfekcijai, didelės apimties atrankiniams tyimams, toksikologijai ir vakcinų kūrimui.

Synonyms

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

Charakteristikos

Age

Vaisius

Gender

Moteris

Morphology

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

HEK293T/17 ląstelės | 305117

Reguliavimo duomenys

Citation	HEK293T/17 (Cytion katalogo numeris 305117)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1926
GMO Status	GMO-S1: šioje HEK293T/17 ląstelių linijoje yra SV40 didžiojo T antigeno sekų, kurios padidina plazmidžių replikacijos ir pakavimo efektyvumą. Intarpas stabiliai yra transformuotose embrioninėse inkstų ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	SV40 T antigenas
Viruses	SV40 (išreiškia SV40 T antigeną)

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

HEK293T/17 ląstelės | 305117**Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

HEK293T/17 ląstelės | 305117

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.