

HEK293T šūnas | 300189

Vispārīga informācija

Description

HEK 293T, kas ir vecākās HEK 293 šūnas atvasinājums ar augstu transfekcijas spēju, izceļas kā daudzpusīgs un spēcīgs instruments biotehnoloģiju jomā, lai ražotu rekombinantus proteīnus un dažādu veidu vakcīnas.

HEK 293T šūnas tika radītas, transfektējot embrionālās nieru 293 šūnas ar plazmīdu, kas kodē SV40 lielo T antigēnu. Sākotnējā HEK 293 šūnu līnija tika izveidota no cilvēka embrionālo nieru audu epitēlija šūnām, un tās transformācija notika, kas bija 293. pētnieku veiktais eksperiments.

Vakcīnu izstrādes jomā 293T embrionālo nieru šūnas ir ļoti svarīgas vīrusu vektoru, tostarp adenovīrusu vektoru, ražošanā. HEK293T šūnas īpašos kultivēšanas apstākļos tiek transficētas ar vektoriem, kas satur adenovīrusu un retrovīrusu elementus, tostarp SV40 replikācijas avotu, kā rezultātā rodas vīrusiem līdzīgas daļiņas (VLP).

VLP, kas nesatur vīrusa ģenētisko materiālu, ir ļoti svarīgas, veidojot uz apakšvienībām un VLP balstītu vakcīnu pamatu. Rekombinantu olbaltumvielu ražošanu 293T šūnās atvieglo dažādas transfekcijas metodes, īpašu uzmanību pievēršot AP fusion olbaltumvielu un citu olbaltumvielu veidu, kas veido vakcīnu antigēno komponentu, veidošanai.

293T šūnu līnijas genoma inženierijas iespējas ļauj pielāgot ekspresijas konstrukcijas, vēl vairāk veicinot vīrusu vektoru ražošanu. Tas kopā ar spēju ražot proteīnus suspensijas kultūrā vai adherentos apstākļos padara 293T šūnu līniju par kompleksu risinājumu modernu vakcīnu izstrādei.

Organism

Cilvēks

Tissue

Nieres

Applications

Vakcīnu izstrāde

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, 293T, Cilvēka embrionālās nieres 293T, 293tsA1609neo

Raksturojums

Age

Auglis

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

HEK293T šūnas | 300189

Citation	HEK293T (Cytion kataloga numurs 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: šī HEK293T šūnu līnija satur SV40 lielā T antigēna sekvenču, kas nodrošina augsta līmeņa transkripciju un efektīvu vīrusu iepakojšanu. Konstrukts ir integrēts cilvēka embrionālajās nieru šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	Vitronektīns
Protein expression	CEA negatīvs, p53 pozitīvs
Tumorigenic	Plikām pelēm

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 stundas
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1 x 10⁴ šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.

HEK293T šūnas | 300189

Fluid renewal 2 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izklaidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

HEK293T šūnas | 300189

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.