

HEK293T/17 šūnas | 305117

Vispārīga informācija

Description

293T/17 šūnu līnija ir HEK293 līnijas imortizēts variants, kas iegūts no cilvēka embrionālajām nieru šūnām un tiek plaši izmantots pētniecībā, jo īpaši retrovīrusu un lentivīrusu vektoru izpētē un ražošanā. Šī šūnu līnija ir modificēta, lai ekspresētu SV40 lielo T antigēnu, tādējādi uzlabojot tās lietderību vīrusu vektoru ražošanā. SV40 lielā T antigēna ekspresija ir galvenā īpašība, kas ļauj šīm šūnām replicēt plazmīdas, kas satur SV40 replikācijas sākumu, ievērojami palielinot plazmīdu DNS iznākumu pārejas transfekcijas procedūrās. Šī īpašība ir īpaši noderīga vīrusu vektoru ražošanā.

293T/17 šūnas ir būtiskas tādu vīrusu vektoru ražošanā kā retrovīrusi un lentivīrusi. Tās efektīvi ražo vīrusu daļiņas, pateicoties to spējai amplificēt transficētās plazmīdas un atbalstīt vīrusu montāžu un izdalīšanos. Tas padara tos par būtisku līdzekli gēnu terapijas pētniecībā, kur šos vektorus izmanto, lai nogādātu ģenētisko materiālu saimnieka šūnās. Šīm šūnām piemīt augsta transfekcijas efektivitāte, kas ir ļoti svarīga svešas DNS sekmīgai ieviešanai un ekspresijai vektoru konstruēšanas laikā. Šī augstā efektivitāte ļauj efektīvi pētīt gēnu funkcijas un radīt rekombinantus proteīnus.

Pateicoties 293T/17 šūnu līnijas spēcīgajām spējām, tā ir nenovērtējama gan fundamentāliem zinātniskiem pētījumiem, gan terapeitiskiem lietojumiem. To plaši izmanto molekulārajā bioloģijā un gēnu inženierijā olbaltumvielu ekspresijai, gēnu funkciju analīzei un jaunu gēnu terapiju izstrādei. Šūnu līnijas efektivitāte vīrusu vektoru ražošanā atvieglo eksperimentus, kuros nepieciešama ģenētiskā materiāla piegāde, padarot to par stūrakmeni virusoloģijas jomā. 293T/17 šūnu līnijai joprojām ir izšķiroša nozīme gēnu funkciju izpratnes uzlabošanā un terapeitisko intervenču izstrādē.

Organism

Cilvēks

Tissue

Embrionālā niere

Applications

Šī šūnu līnija ir optimāla izvēle transfekcijai, augstas veiktspējas skrīningam, toksikoloģijai un vakcīnu izstrādei.

Synonyms

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

Raksturojums

Age

Auglis

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

HEK293T/17 šūnas | 305117

Citation	HEK293T/17 (Cytion kataloga numurs 305117)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1926
GMO Status	GMO-S1: šī HEK293T/17 šūnu līnija satur SV40 lielā T antigēna sekvenču, kas uzlabo plazmīdu replikācijas un iepakojšanas efektivitāti. Ievietojums ir stabili klātesošs transformētās embrionālās nieru šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Antigen expression	SV40 T antigēns
Viruses	SV40 (ekspresē SV40 T antigēnu)

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt 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.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
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.

HEK293T/17 šūnas | 305117

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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

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.

HEK293T/17 šūnas | 305117

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 starposms 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 pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.