

Komórki HEK293T/17 | 305117**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa 293T/17 jest immortalizowanym wariantem linii HEK293, pochodzącej z ludzkich embrionalnych komórek nerkowych i szeroko wykorzystywanej w badaniach, w szczególności w badaniach i produkcji wektorów retrowirusowych i lentiwirusowych. Ta linia komórkowa została zmodyfikowana w celu ekspresji antygenu SV40 large T, zwiększając jej użyteczność w produkcji wektorów wirusowych. Ekspresja antygenu SV40 large T jest kluczową cechą, która umożliwia tym komórkom replikację plazmidów zawierających źródło replikacji SV40, znacznie zwiększając wydajność plazmidowego DNA w procedurach przejściowej transfekcji. Cecha ta jest szczególnie korzystna w przypadku produkcji wektorów wirusowych.

komórki 293T/17 są niezbędne w produkcji wektorów wirusowych, takich jak retrowirusy i lentiwirusy. Efektywnie wytwarzają cząsteczki wirusowe ze względu na ich zdolność do amplifikacji transfekowanych plazmidów i wspomagania montażu i uwalniania wirusa. Czyni je to istotnym narzędziem w badaniach nad terapią genową, gdzie wektory te są wykorzystywane do dostarczania materiału genetycznego do komórek gospodarza. Komórki wykazują wysoką wydajność transfekcji, kluczową dla pomyślnego wprowadzenia i ekspresji obcego DNA podczas budowy wektora. Ta wysoka wydajność umożliwia skuteczne badanie funkcji genów i generowanie rekombinowanych białek.

Solidne możliwości linii komórkowej 293T/17 sprawiają, że jest ona nieoceniona zarówno w podstawowych badaniach naukowych, jak i zastosowaniach terapeutycznych. Jest szeroko stosowana w biologii molekularnej i inżynierii genetycznej do ekspresji białek, analizy funkcji genów i opracowywania nowych terapii genowych. Wydajność linii komórkowej w produkcji wektorów wirusowych ułatwia eksperymenty wymagające dostarczania materiału genetycznego, co czyni ją kamieniem węgielnym w dziedzinie wirusologii. Linia komórkowa 293T/17 nadal odgrywa kluczową rolę w pogłębianiu naszego zrozumienia funkcji genów i opracowywaniu interwencji terapeutycznych.

Organism

Człowiek

Tissue

Nerka embrionalna

Applications

Ta linia komórkowa jest optymalnym wyborem do transfekcji, wysokowydajnych badań przesiewowych, toksykologii i opracowywania szczepionek.

Synonyms

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

Charakterystyka**Age**

Płód

Gender

Kobieta

Morphology

Nabłonek

Komórki HEK293T/17 | 305117

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation HEK293T/17 (numer katalogowy Cytion 305117)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1926

GMO Status GMO-S1: Ta linia komórkowa HEK293T/17 zawiera sekwencje antygenu SV40 Large T, zwiększając replikację plazmidu i wydajność pakowania. Wstawka jest stabilnie obecna w transformowanych embrionalnych komórkach nerki. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Antigen expression Antygen SV40 T**Viruses** SV40 (wyraża antygen SV40 T)

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Komórki HEK293T/17 | 305117**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere** 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Komórki HEK293T/17 | 305117

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki HEK293T/17 | 305117

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,14
D16S539: 9,13
D5S818: 8,9
D7S820: 11
TH01: 7,9.3
TPOX: 11
vWA: 16,19
D3S1358: 15,16,17
D21S11: 28,30.2
D18S51: 17,18
Penta E: 7,15
Penta D: 9,10
D8S1179: 11,12,14
FGA: 23
D6S1043: 11
D2S1338: 19
D12S391: 19,21
D19S433: 18