

Bunky HEK293T | 300189**Všeobecné informácie****Description**

HEK 293T, vysoko transfectovateľný derivát rodičovskej bunky HEK 293, je univerzálnym a výkonným nástrojom v oblasti biotechnológie na výrobu rekombinantných proteínov a rôznych typov vakcín.

Bunky HEK 293T boli vytvorené transfekciou buniek embryonálnej obličky 293 plazmidom kódujúcim veľký T antigén SV40. Pôvodná bunková línia HEK293 bola vyvinutá z epitelových buniek tkaniva ľudských embryonálnych obličiek, pričom k jej transformácii došlo v 293. experimente, ktorý výskumníci uskutočnili.

V oblasti vývoja vakcín sú bunky embryonálnych obličiek 293T kľúčové pre produkciu vírusových vektorov vrátane adenovírusových vektorov. Bunky HEK293T sa za špecifických kultivačných podmienok transfectujú vektormi nesúcimi adenovírusové a retrovirusové prvky vrátane pôvodu replikácie SV40, čo vedie k produkcii vírusom podobných častíc (VLP).

VLP, zbavené vírusového genetického materiálu, sú kľúčové pri tvorbe základu vakcín na báze podjednotiek a VLP. Produkciu rekombinantných proteínov v bunkách 293T uľahčujú rôzne transfectčné metódy s dôrazom na tvorbu fúzných proteínov AP a iných typov proteínov, ktoré tvoria antigénnu zložku vakcín.

Schopnosti genómového inžinierstva bunkovej línie 293T umožňujú prispôbienie expresných konštruktov, čo ďalej zvyšuje produkciu vírusových vektorov. To spolu so schopnosťou produkovať proteíny v suspenznej kultúre alebo v adherentných podmienkach robí z bunkovej línie 293T komplexné riešenie pre moderný vývoj vakcín.

Organism

Ľudské

Tissue

Obličky

Applications

Vývoj vakcín

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, ľudské embryonálne obličky 293T, 293tsA1609neo

Charakteristika**Age**

Plod

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Bunky HEK293T | 300189**Citation** HEK293T (katalógové číslo Cytion 300189)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0063

GMO Status GMO-S1: Táto bunková línia HEK293T obsahuje sekvencie veľkého antigénu SV40, ktoré podporujú vysokú úroveň expresie transfekovaných plazmidov a efektívne balenie vírusov. Konštrukt je integrovaný do buniek ľudských embryonálnych obličiek. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách

Biomolekulárne údaje**Receptors expressed** Vitronektín**Protein expression** CEA negatívny, p53 pozitívny**Tumorigenic** Na nahých myšiach**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 hodín

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky HEK293T | 300189

Seeding density 1×10^4 buniek/cm² vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.

Fluid renewal 2 krát týždenne

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Bunky HEK293T | 300189

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.