

HEK293T rakud | 300189

Üldine teave

Description

HEK 293T, mis on väga hästi transfitseeritav vanemraku HEK 293 tuletis, on biotehnoloogia valdkonnas mitmekülgne ja võimas vahend rekombinantsete valkude ja mitmesuguste vaktsiinide tootmiseks.

HEK-293T rakud on loodud embrüonaalsete neerude 293 rakkude transfekdeerimisel SV40 suurt T antigeeni kodeeriva plasmiidiga. Esialgne HEK293 rakuliin arenes välja inimese embrüonaalse neerukoe epiteelirakkudest, kusjuures selle transformatsioon toimus teadlaste poolt läbi viidud 293. katses.

Vaktsiinide väljatöötamise valdkonnas on 293T embrüonaalsed neerurakud keskse tähtsusega viirusvektorite, sealhulgas adenoviirusvektorite tootmisel. HEK293T rakke transfekdeeritakse spetsiifilistes kasvatustingimustes adenoviiruslikke ja retroviiruslikke elemente kandvate vektoritega, sealhulgas SV40 replikatsiooni algupäraga, mis viib viiruslike osakeste (VLP) tootmisele.

VLP-d, mis ei sisalda viiruse geneetilist materjali, on võtmetähtsusega alarühma- ja VLP-põhiste vaktsiinide aluseks. Rekombinantsete valkude tootmist 293T rakkudes hõlbustavad erinevad transfektsioonimeetodid, keskendudes AP-fusioonvalkude ja muude vaktsiinide antigeenset komponenti moodustavate valkude tüüpide genereerimisele.

293T rakuliini genoomitehnoloogilised võimalused võimaldavad ekspressioonikonstruktide kohandamist, mis suurendab veelgi viirusvektorite tootmist. See koos võimega toota valke suspensioonikultuuris või adherentsetes tingimustes teeb 293T rakuliinist kaasaegse vaktsiini arendamise täislahenduse.

Organism

Inimene

Tissue

Neerud

Applications

Vaktsiini väljatöötamine

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Inimese embrüonaalne neeru 293T, 293tsA1609neo

Omadused

Age

Loote

Gender

Naised

Morphology

Epiteelilaadsed

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

HEK293T rakud | 300189

Citation	HEK293T (Cytioni katalooginumber 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: See HEK293T rakuliin sisaldab SV40-viirust, mis soodustab transfekteeritud plasmiidide kõrget ekspressiooni ja tõhusat viiruspakendamist. Konstrukt on integreeritud inimese embrüonaalsetesse neerurakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Vitronektiin
Protein expression	CEA negatiivne, p53 positiivne
Tumorigenic	Alasti hiirtel

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density	1×10^4 rakku/cm ² moodustab umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.
-----------------	---

HEK293T rakud | 300189

Fluid renewal 2 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

HEK293T rakud | 300189

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.