Product sheet

HEK293T ląstelės | 300189

Bendra informacija

Description	HEK 293T, labai lengvai transfekcinė HEK 293 ląstelė, yra universali ir galinga priemonė biotechnologijų srityje, skirta rekombinantiniams baltymams ir įvairių tipų vakcinoms gaminti. HEK-293T ląstelės buvo sukurtos transfektuojant embrionines inkstų 293 ląsteles plazmide, koduojančia SV40 didelį T antigeną. Originali HEK293 ląstelių linija buvo sukurta iš žmogaus embrioninių inkstų epitelio ląstelių, o jos transformacija įvyko per 293-ąjį mokslininkų atliktą eksperimentą. Vakcinų kūrimo srityje 293T embrioninių inkstų ląstelės yra labai svarbios virusinių vektorių, įskaitant adenovirusinius vektorius, gamybai. HEK293T ląstelės tam tikromis kultūros sąlygomis transfekuojamos vektoriais su adenovirusiniais ir retrovirusiniais elementais, įskaitant SV40 replikacijos pradžią, ir taip gaminamos į virusus panašios dalelės (VLP). VLP, neturinčios viruso genetinės medžiagos, yra labai svarbios kuriant subvienetines ir VLP pagrindu sukurtas vakcinas. Rekombinantinių baltymų gamybą 293T ląstelėse palengvina įvairūs transfekcijos metodai, daugiausia dėmesio skiriant AP sintezės baltymų ir kitų tipų baltymų, sudarančių vakcinų antigeninį komponentą, gamybai. 293T ląstelių linijos genomo inžinerijos galimybės leidžia pritaikyti raiškos konstruktus, taip dar labiau padidinant virusinių vektorių gamybą. Dėl to, kartu su galimybe gaminti baltymus suspensijos kultūroje arba adherentinėmis sąlygomis, 293T ląstelių linija yra visapusiškas sprendimas šiuolaikinių vakcinų kūrimui.
Organism	Žmogus
Tissue	Inkstai
Applications	Vakcinų kūrimas
Synonyms	Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, 293T, Žmogaus embrioninis inkstas 293T, 293tsA1609neo

Charakteristikos

Age	Vaisius
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

HEK293T ląstelės | 300189

Citation	HEK293T (Cytion katalogo numeris 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Ši HEK293T ląstelių linija yra užkrėsta SV40 virusu, todėl užtikrina aukštą transfekuotų plazmidų ekspresijos lygį ir veiksmingą virusinių dalelių formavimąsi. Konstruktas yra integruotas į žmogaus embrionines inkstų ląsteles. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Vitronektinas
Protein expression	CEA neigiamas, p53 teigiamas
Tumorigenic	Su nuogomis pelėmis

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 valandų
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2 per maždaug 4 dienas sudarys konfluentinį sluoksnį.

HEK293T ląstelės | 300189

Fluid renewal	2 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra

HEK293T ląstelės | 300189

Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.