Product sheet

Bunky HEK293T | 300189

Všeobecné informácie

Description	HEK 293T, vysoko transfektovateľný 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 transfikujú vektormi nesúcimi adenovírusové a retrovírusové 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 transfekčné metódy s dôrazom na tvorbu fúznych proteínov AP a iných typov proteínov, ktoré tvoria antigénnu zložku vakcín. Schopnosti genómového inžinierstva bunkovej línie 293T umožňujú prispôsobenie 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

Product sheet

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 vírus SV40, čo umožňuje vysokú úroveň expresie transfekovaných plazmídov a efektívne balenie vírusových častíc. Konštrukt je integrovaný do ľudských embryonálnych obličkových buniek. Toto zaradenie platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť

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	Doplňte 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 odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1 x 10^4 buniek/cm^2 vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.

Bunky HEK293T | 300189

Fluid renewal	2 krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10^4 buniek/cm^2 a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné 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 obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.
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.
Flask Coating	Žiadne

Bunky HEK293T | 300189

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 a molekulárna analýza

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.