

Bunky HEK293T/17 | 305117**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia 293T/17 je immortalizovaný variant línie HEK293, odvodený z ľudských embryonálnych obličkových buniek a hojne využívaný vo výskume, najmä pri štúdiu a výrobe retrovírusových a lentivírusových vektorov. Táto bunková línia bola modifikovaná tak, aby exprimovala veľký antigén SV40 T, čo zvyšuje jej využiteľnosť pri výrobe vírusových vektorov. Expresia veľkého antigénu SV40 T je kľúčovou vlastnosťou, ktorá umožňuje týmto bunkám replikovať plazmidy obsahujúce pôvod replikácie SV40, čo výrazne zvyšuje výťažok plazmidovej DNA pri postupoch prechodnej transfekcie. Táto vlastnosť je obzvlášť výhodná pri výrobe vírusových vektorov.

bunky 293T/17 sú nevyhnutné pri výrobe vírusových vektorov, ako sú retrovírusy a lentivírusy. Účinne produkujú vírusové častice vďaka svojej schopnosti amplifikovať transfekované plazmidy a podporovať zostavovanie a uvoľňovanie vírusov. To z nich robí dôležitý nástroj vo výskume génovej terapie, kde sa tieto vektory používajú na prenos genetického materiálu do hostiteľských buniek. Bunky vykazujú vysokú účinnosť transfekcie, ktorá je rozhodujúca pre úspešné zavedenie a expresiu cudzej DNA počas konštrukcie vektora. Táto vysoká účinnosť umožňuje efektívne štúdium funkcie génov a tvorbu rekombinantných proteínov.

Robustné schopnosti bunkovej línie 293T/17 ju robia neoceniteľnou pre základný vedecký výskum aj terapeutické aplikácie. Široko sa používa v molekulárnej biológii a genetickom inžinierstve na expresiu proteínov, analýzu funkcie génov a vývoj nových génových terapií. Účinnosť bunkovej línie pri produkcii vírusových vektorov uľahčuje experimenty vyžadujúce dodávku genetického materiálu, čím sa stáva základom v oblasti virológie. Bunková línia 293T/17 naďalej zohráva kľúčovú úlohu pri zlepšovaní nášho chápania funkcie génov a vývoji terapeutických zásahov.

Organism Ľudské**Tissue** Embryonálna oblička**Applications** Táto bunková línia je optimálnou voľbou na transfekciu, vysoko výkonný skrining, toxikológiu a vývoj vakcín.**Synonyms** HEK293T/17, HEK-293T/17, HEK 293T/17**Charakteristika****Age** Plod**Gender** Ženy**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje**

Bunky HEK293T/17 | 305117

Citation	HEK293T/17 (katalógové číslo Cytion 305117)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1926
GMO Status	GMO-S1: Táto bunková línia HEK293T/17 obsahuje vírus SV40, ktorý zvyšuje účinnosť replikácie a balenia plazmidu. Inzert je stabilne prítomný v transformovaných embryonálnych obličkových bunkách. Toto zaradenie platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Antigen expression	SV40 T antigén
Viruses	SV40 (exprimuje antigén SV40 T)

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
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 odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
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.

Bunky HEK293T/17 | 305117

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

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

Bunky HEK293T/17 | 305117

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 mykoplazmiem založených na luminiscencii.

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