Product sheet

HEK293T-celler | 300189

Generel information

Description	HEK 293T, et meget transfekterbart derivat af den parentale HEK 293-celle, skiller sig ud som et alsidigt og kraftfuldt værktøj inden for bioteknologi til produktion af rekombinante proteiner og forskellige typer af vacciner. HEK-293T-celler blev genereret ved at transfektere 293-celler fra embryonale nyrer med et plasmid, der koder for SV40 large T-antigenet. Den oprindelige HEK293-cellelinje blev udviklet fra epitelceller fra humant embryonalt nyrevæv, og transformationen fandt sted i det 293. eksperiment, som forskerne udførte. Inden for vaccineudvikling er 293T embryonale nyreceller afgørende for produktionen af virusvektorer, herunder adenovirusvektorer. HEK293T-celler transfekteres under specifikke dyrkningsbetingelser med vektorer, der bærer adenovirale og retrovirale elementer, herunder SV40-replikationsoprindelsen, hvilket fører til produktion af viruslignende partikler (VLP'er). VLP'erne, der er blottet for viralt genetisk materiale, er nøglen til at danne grundlag for subunit- og VLP-baserede vacciner. Produktionen af rekombinante proteiner i 293T-celler lettes ved hjælp af forskellige transfektionsmetoder med fokus på produktion af AP-fusionsproteiner og andre proteintyper, der udgør den antigene komponent i vacciner. 293T-cellelinjens genomtekniske evner gør det muligt at tilpasse ekspressionskonstruktioner, hvilket yderligere øger produktionen af virale vektorer. Dette, kombineret med evnen til at producere proteiner i suspensionskultur eller under adhærente forhold, gør 293T-cellelinjen til en komplet løsning til moderne vaccineudvikling.
Organism	Menneske
Tissue	Nyre
Applications	Udvikling af vacciner
Synonyms	Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Human Embryonic Kidney 293T, 293tsA1609neo

Karakteristika

Age	Foster
Gender	Kvinde
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhæftende

Product sheet

HEK293T-celler | 300189

Regulatoriske data

Citation	HEK293T (Cytion katalognummer 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Denne HEK293T-cellelinje indeholder SV40, hvilket muliggør høj ekspression af transfekterede plasmider og effektiv viral pakning. Konstruktet er integreret i humane embryonale nyreceller. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder

Biomolekylære data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA-negativ, p53-positiv
Tumorigenic	I nøgne mus

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

HEK293T-celler | 300189

Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2 vil danne et sammenhængende lag på ca. 4 dage.
Fluid renewal	2 gange om ugen
Post-Thaw Recovery	Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10^4 celler/cm^2, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.

HEK293T-celler | 300189

Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.