Product sheet

HEK293T-Zellen | 300189

Allgemeine Informationen

Description	HEK 293T, ein hochgradig transfizierbares Derivat der elterlichen HEK 293-Zelle, zeichnet sich als vielseitiges und leistungsfähiges Werkzeug im Bereich der Biotechnologie für die Herstellung rekombinanter Proteine und verschiedener Arten von Impfstoffen aus. HEK-293T-Zellen wurden durch Transfektion von 293-Embryonalnieren-Zellen mit einem Plasmid erzeugt, das für das große SV40-T-Antigen kodiert. Die ursprüngliche HEK293-Zelllinie wurde aus den Epithelzellen des menschlichen embryonalen Nierengewebes entwickelt, wobei die Umwandlung im 293. Im Bereich der Impfstoffentwicklung sind die embryonalen 293T-Nierenzellen von zentraler Bedeutung für die Produktion von viralen Vektoren, einschließlich Adenovirus-Vektoren. HEK293T-Zellen werden unter bestimmten Kulturbedingungen mit Vektoren transfiziert, die adenovirale und retrovirale Elemente tragen, einschließlich des SV40-Replikationsursprungs, was zur Produktion von virusähnlichen Partikeln (VLPs) führt. Die VLPs, die kein virales genetisches Material enthalten, bilden die Grundlage für Subunit- und VLP-basierte Impfstoffe. Die rekombinante Proteinproduktion in 293T-Zellen wird durch verschiedene Transfektionsmethoden erleichtert, wobei der Schwerpunkt auf der Erzeugung von AP-Fusionsproteinen und anderen Proteintypen liegt, die die antigene Komponente von Impfstoffen bilden. Die Genom-Engineering-Fähigkeiten der 293T-Zelllinie ermöglichen die individuelle Anpassung von Expressionskonstrukten, was die Produktion von viralen Vektoren weiter fördert. In Verbindung mit der Fähigkeit, Proteine in Suspensionskultur oder unter adhärenten Bedingungen zu produzieren, macht dies die 293T-Zelllinie zu einer Komplettlösung für die moderne Impfstoffentwicklung.
Organism	Menschen
Tissue	Niere
Applications	Entwicklung eines Impfstoffs
Synonyms	Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, menschliche embryonale Niere 293T, 293tsA1609neo

Merkmale

Age	Fötus
Gender	Weiblich
Morphology	Epithelähnlich
Growth properties	Adhärent

HEK293T-Zellen | 300189

Regulatorische Daten

Citation	HEK293T (Cytion Katalognummer 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Diese HEK293T-Zelllinie enthält SV40, was eine hohe Expression transfizierter Plasmide und eine effiziente Virusverpackung ermöglicht. Das Konstrukt ist in menschliche embryonale Nierenzellen integriert. Diese Einstufung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA negativ, p53 positiv
Tumorigenic	In Nacktmäusen

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 Stunden

HEK293T-Zellen | 300189

Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4
Seeding density	1 x 10^4 Zellen/cm^2 ergeben in etwa 4 Tagen eine konfluente Schicht.
Fluid renewal	2 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5 x 10^4 Zellen/cm^2 ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhärieren lassen.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HEK293T-Zellen | 300189

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HEK293T-Zellen | 300189

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 12,13,14 **D16S539**: 9,13 **D5S818**: 8,9 **D7S820**: 11 **TH01**: 7,9.3 **TPOX**: 11 **vWA**: 16,18,19,20 **D3S1358**: 15,16,17,18 **D21S11**: 28,30.2 **D18S51**: 17,18 **Penta E**: 7,15 **Penta D**: 9,10 **D8S1179**: 11,12,13,14 **FGA**: 22,23 **D2S1338**: 19 **D19S433**: 18 **PEZ6**: EB1