Product sheet

HEK293T-celler | 300189

Generell informasjon

Description	HEK 293T, et svært transfekterbart derivat av foreldrecellen HEK 293, fremstår som et allsidig og kraftig verktøy innen bioteknologi for produksjon av rekombinante proteiner og ulike typer vaksiner. HEK-293T-celler ble generert ved å transfektere 293-celler fra embryonale nyrer med et plasmid som koder for SV40 large T-antigenet. Den opprinnelige HEK293-cellelinjen ble utviklet fra epitelceller fra humant embryonalt nyrevev, og transformasjonen skjedde i det som var det 293. eksperimentet som forskerne utførte. Når det gjelder vaksineutvikling, er 293T embryonale nyreceller sentrale for produksjon av virusvektorer, inkludert adenovirusvektorer. HEK293T-celler transfekteres under spesifikke dyrkingsforhold med vektorer som bærer adenovirale og retrovirale elementer, inkludert SV40-replikasjonsopphavet, noe som fører til produksjon av viruslignende partikler (VLP-er). VLP-ene, som er blottet for viralt genetisk materiale, er nøkkelen til å danne grunnlaget for subenhets- og VLP-baserte vaksiner. Produksjonen av rekombinante proteiner i 293T-celler foregår ved hjelp av ulike transfeksjonsmetoder, med hovedvekt på produksjon av AP-fusjonsproteiner og andre proteintyper som utgjør den antigene komponenten i vaksiner. 293T-cellelinjens genomtekniske egenskaper gjør det mulig å skreddersy ekspresjonskonstruksjoner, noe som ytterligere øker produksjonen av virusvektorer. Dette, kombinert med muligheten til å produsere proteiner i suspensjonskultur eller under adherente forhold, gjør 293T-cellelinjen til en fullverdig løsning for moderne vaksineutvikling.
Organism	Menneskelig
Tissue	Nyre
Applications	Utvikling av vaksiner
Synonyms	Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, 293T, Human Embryonic Kidney 293T, 293tsA1609neo

Kjennetegn

Age	Foster
Gender	Kvinne
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

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-cellelinjen inneholder SV40, noe som muliggjør høy ekspresjon av transfiserte plasmider og effektiv viral pakking. Konstruktet er integrert i humane embryonale nyreceller. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan avvike andre steder

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO3, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

HEK293T-celler | 300189

Split ratio	Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2 vil gi et sammenvokst lag på omtrent 4 dager.
Fluid renewal	2 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10^4 celler/cm^2 og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

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

HEK293T-celler | 300189

Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
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