Product sheet

HEK293T-celler | 300189

Allmän information

Description	HEK 293T, ett mycket transfekterbart derivat av föräldracellen HEK 293, framstår som ett mångsidigt och kraftfullt verktyg inom bioteknikområdet för produktion av rekombinanta proteiner och olika typer av vacciner. HEK-293T-celler genererades genom transfektion av 293-celler från embryonala njurar med en plasmid som kodar för SV40 Large T-antigen. Den ursprungliga HEK293-cellinjen utvecklades från epitelceller från mänsklig embryonal njurvävnad, och omvandlingen skedde i det 293:e experimentet som forskarna genomförde. När det gäller vaccinutveckling är de embryonala 293T-njurcellerna centrala för produktion av virusvektorer, inklusive adenovirusvektorer. HEK293T-celler transfekteras under specifika odlingsförhållanden med vektorer som bär på adenovirala och retrovirala element, inklusive SV40-replikationsursprunget, vilket leder till produktion av virusliknande partiklar (VLP). VLP:erna, som saknar viralt genetiskt material, är viktiga för att utgöra grunden för subenhets- och VLP-baserade vacciner. Produktionen av rekombinanta proteiner i 293T-celler underlättas av olika transfektionsmetoder, med tonvikt på generering av AP-fusionsproteiner och andra typer av proteiner som utgör den antigena komponenten i vacciner. 293T-cellinjens förmåga till genome engineering gör det möjligt att skräddarsy expressionskonstruktioner, vilket ytterligare ökar produktionen av virala vektorer. Detta, i kombination med förmågan att producera proteiner i suspensionskultur eller under adherenta förhållanden, gör 293T-cellinjen till en komplett lösning för modern vaccinutveckling.
Organism	Människan
Tissue	Njurar
Applications	Utveckling av vacciner
Synonyms	Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, 293T, Human Embryonic Kidney 293T, 293tsA1609neo

Egenskaper

Age	Foster
Gender	Kvinna
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Följsam

HEK293T-celler | 300189

Lagstadgade uppgifter

Citation	HEK293T (Cytion katalognummer 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Denna HEK293T-cellinje innehåller SV40, vilket möjliggör hög uttrycksnivå för transfekterade plasmider och effektiv viral förpackning. Konstruktet är integrerat i humana embryonala njurceller. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder

Biomolekylära data

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA-negativ, p53-positiv
Tumorigenic	I nakna möss

Hantering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 timmar
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

HEK293T-celler | 300189

Split ratio	Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2 ger ett konfluent skikt efter cirka 4 dagar.
Fluid renewal	2 gånger per vecka
Post-Thaw Recovery	Efter upptining, plattlägg cellerna med 5 x 10^4 celler/cm^2 och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

HEK293T-celler | 300189

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

HEK293T-celler | 300189

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