Product sheet

Celice HEK293T | 300189

Splošne informacije

Description	HEK 293T, visoko transfekcijski derivat starševske celice HEK 293, je vsestransko in zmogljivo orodje na področju biotehnologije za proizvodnjo rekombinantnih beljakovin in različnih vrst cepiv. Celice HEK 293T so nastale s transfekcijo celic embrionalne ledvice 293 s plazmidom, ki kodira antigen SV40 large T. Prvotna celična linija HEK293 je bila razvita iz epitelijskih celic tkiva človeških embrionalnih ledvic, pri čemer je do njene transformacije prišlo v 293. poskusu, ki so ga izvedli raziskovalci. Na področju razvoja cepiv so celice embrionalnih ledvic 293T ključne za proizvodnjo virusnih vektorjev, vključno z adenovirusnimi vektorji. Celice HEK293T se pod posebnimi pogoji gojenja transficirajo z vektorji z adenovirusnimi in retrovirusnimi elementi, vključno z izvorom replikacije SV40, kar vodi v proizvodnjo virusom podobnih delcev (VLP). VLP, ki nimajo virusnega genetskega materiala, so ključni za osnovo cepiv na osnovi podenot in VLP. Proizvodnjo rekombinantnih beljakovin v celicah 293T omogočajo različne metode transfekcije s poudarkom na proizvodnji fuzijskih beljakovin AP in drugih vrst beljakovin, ki tvorijo antigensko komponento cepiv. Zmogljivosti genomskega inženiringa celične linije 293T omogočajo prilagajanje ekspresijskih konstruktov, kar dodatno spodbuja proizvodnjo virusnih vektorjev. Skupaj z zmožnostjo proizvajanja beljakovin v suspenzijski kulturi ali adherentnih pogojih je celična linija 293T celovita rešitev za sodoben razvoj cepiv.
Organism	Človek
Tissue	Ledvice
Applications	Razvoj cepiva
Synonyms	Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Človeške embrionalne ledvice 293T, 293tsA1609neo

Značilnosti

Age	Plod
Gender	Ženske
Morphology	Epitelijam podobni
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Celice HEK293T | 300189

Citation	HEK293T (kataloška številka Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija HEK293T vsebuje virus SV40, kar omogoča visoko stopnjo ekspresije transfektiranih plazmidov in učinkovito pakiranje virusov. Konstrukt je vgrajen v človeške embrionalne ledvične celice. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA negativen, p53 pozitiven
Tumorigenic	Na golih miših

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 ur
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2 bo v približno 4 dneh oblikovalo konfluentno plast.

Celice HEK293T | 300189

Fluid renewal	2-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 cel^{ic}/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.
Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča. 7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic. 8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 $\%_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič

Celice HEK293T | 300189

Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.