

HEK293T Hücreleri | 300189

Genel bilgi

Description

Ebeveyn HEK 293 hücresinin yüksek oranda transfekte edilebilir bir türevi olan HEK 293T, rekombinant proteinlerin ve çeşitli aşı türlerinin üretimi için biyoteknoloji alanında çok yönlü ve güçlü bir araç olarak öne çıkmaktadır.

HEK-293T hücreleri, embriyonik böbrek 293 hücrelerinin SV40 büyük T antijenini kodlayan bir plazmid ile transfekte edilmesiyle üretilmiştir. Orijinal HEK293 hücre hattı, insan embriyonik böbrek dokusunun epitel hücrelerinden geliştirildi ve dönüşümü, araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen 293. deneyde meydana geldi.

Aşı geliştirme alanında, 293T embriyonik böbrek hücreleri, adenovirüs vektörleri de dahil olmak üzere viral vektör üretimi için çok önemlidir. HEK293T hücreleri, belirli kültür koşulları altında, SV40 replikasyon kökeni de dahil olmak üzere adenoviral ve retroviral unsurlar taşıyan vektörlerle transfekte edilerek virüs benzeri partiküllerin (VLP'ler) üretimine yol açar.

Viral genetik materyalden yoksun olan VLP'ler, alt birim ve VLP tabanlı aşılarda temelini oluşturmada kilit öneme sahiptir. 293T hücrelerinde rekombinant protein üretimi, AP füzyon proteinlerinin ve aşılarda antijenik bileşenini oluşturan diğer protein türlerinin üretilmesine vurgu yapılarak çeşitli transfeksiyon yöntemleriyle kolaylaştırılır.

293T hücre hattının genom mühendisliği yetenekleri, ekspresyon yapılarının özelleştirilmesine olanak tanıyarak viral vektörlerin üretimini daha da artırmaktadır. Bu özellik, süspansiyon kültüründe veya yapışık koşullarda protein üretme kabiliyetiyle birleştiğinde, 293T hücre hattını modern aşı geliştirme için eksiksiz bir çözüm haline getirmektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Böbrek

Applications

Aşı geliştirme

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, İnsan Embriyonik Böbrek 293T, 293tsA1609neo

Özellikler

Age

Fetüs

Gender

Kadın

Morphology

Epitel benzeri

Growth properties

Yapışık

HEK293T Hücreleri | 300189

Düzenleyici Veriler

Citation	HEK293T (Cytion katalog numarası 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Bu HEK293T hücre hattı SV40 içerir; bu da transfekte edilmiş plazmidlerin yüksek düzeyde ekspresyonunu ve verimli viral paketlemeyi destekler. Yapı, insan embriyonik böbrek hücrelerine entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir

Biyomoleküler Veriler

Receptors expressed	Vitronektin
Protein expression	CEA negatif, p53 pozitif
Tumorigenic	Çıplak farelerde

Elleçleme

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion makale numarası 820100a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 saat

HEK293T Hücreleri | 300189

Subculturing

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density

1×10^4 hücre/cm² yaklaşık 4 gün içinde birleşik bir tabaka oluşturacaktır.

Fluid renewal

haftada 2 kez

Post-Thaw Recovery

Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HEK293T Hücreleri | 300189

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.**Flask Coating**

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HEK293T Hücreleri | 300189

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.