

HEK293T-solut | 300189

Yleisiä tietoja

Description

HEK 293T, joka on erittäin hyvin transfeekoituva vanhemman HEK 293 -solun johdannainen, on monipuolinen ja tehokas väline biotekniikan alalla rekombinanttiproteiinien ja erityyppisten rokotteiden tuotannossa.

HEK-293T-solut on tuotettu transfektoimalla alkion munuaisten 293-soluja SV40 large T -antigeenia koodaavalla plasmidilla. Alkuperäinen HEK293-solulinja kehitettiin ihmisen alkionmunuaiskudoksen epiteelisoluista, ja sen muuntaminen tapahtui tutkijoiden 293. kokeessa.

Rokotekehityksessä 293T-alkion munuaissolut ovat keskeisiä virusvektorien, kuten adenovirusvektoreiden, tuotannossa. HEK293T-solut transfektoidaan tietyissä viljelyolosuhteissa vektoreilla, jotka sisältävät adenovirus- ja retroviruselementtejä, mukaan lukien SV40-replikaatioperusta, mikä johtaa viruksen kaltaisten hiukkasten (VLP) tuotantoon.

VLP:t, joissa ei ole viruksen geneettistä materiaalia, ovat avainasemassa alayksikkö- ja VLP-pohjaisten rokotteiden perustana. Rekombinanttiproteiinien tuotantoa 293T-soluissa helpotetaan erilaisilla transfektiomenetelmillä, ja pääpaino on AP-fuusioproteiinien ja muiden rokotteiden antigeenisen komponentin muodostavien proteiinityyppien tuottamisessa.

293T-solulinjan genomitekniikkaominaisuudet mahdollistavat ekspressiokonstruktioiden räätälöinnin, mikä tehostaa entisestään virusvektoreiden tuotantoa. Tämä yhdistettynä kykyyn tuottaa proteiineja suspensioviljelyssä tai adherenttiolosuhteissa tekee 293T-solulinjasta täydellisen ratkaisun nykyaikaiseen rokotekehitykseen.

Organism

Ihminen

Tissue

Munuaiset

Applications

Rokotteen kehittäminen

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, ihmisen alkion munuainen 293T, 293tsA1609neo

Ominaisuudet

Age

Sikiö

Gender

Nainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva

HEK293T-solut | 300189

Sääntelytiedot

Citation	HEK293T (Cytionin luettelonumero 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Tämä HEK293T-solulinja sisältää SV40 Large T -antigeenisekvenssejä, jotka tukevat transfektoitujen plasmidien korkeatasoista ilmentymistä ja tehokasta viruspakkaamista. Konstruktio on integroitu ihmisen alkion munuaissoluihin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla

Biomolekyyli tiedot

Receptors expressed	Vitronektiini
Protein expression	CEA negatiivinen, p53 positiivinen
Tumorigenic	Alastomilla hiirillä

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 tuntia

HEK293T-solut | 300189

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm² tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 4 päivässä.

Fluid renewal 2 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HEK293T-solut | 300189

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEK293T-solut | 300189

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.