

HEK293T sejtek | 300189

Általános információk

Description

A HEK 293T, a HEK 293 szülősejt jól transzfectálható származéka, sokoldalú és hatékony eszköz a biotechnológia területén a rekombináns fehérjék és különböző típusú vakcinák előállítására.

A HEK-293T sejteket úgy hozták létre, hogy a 293-as embrionális vese sejteket transzfectálták az SV40 nagy T antigént kódoló plazmáddal. Az eredeti HEK293 sejtvonalat emberi embrionális vese szövet hámsejtjeiből fejlesztették ki, és az átalakítás a kutatók által végzett 293. kísérlet során történt.

A vakcinafejlesztés területén a 293T embrionális vese sejtek kulcsfontosságúak a vírusvektorok, köztük az adenovírus vektorok előállításában. A HEK293T sejteket speciális tenyésztési körülmények között adenovírus és retrovírus elemeket hordozó vektorokkal transzfectálják, beleértve az SV40 replikációs eredetét is, ami víruszerű részecskék (VLP-k) előállításához vezet.

A vírus genetikai anyagától mentes VLP-k kulcsfontosságúak az alegység- és VLP-alapú vakcinák alapjául. A 293T sejtekben történő rekombináns fehérje előállítását különböző transzfectációs módszerek segítik elő, hangsúlyt fektetve az AP fúziós fehérjék és más fehérjetípusok előállítására, amelyek a vakcinák antigén komponensét alkotják.

A 293T sejtvonal genommérnöki képességei lehetővé teszik az expressziós konstrukciók tesztelését, ami tovább fokozza a vírusvektorok előállítását. Ez, valamint a fehérjék szuszpenziós kultúrában vagy adherens körülmények között történő előállításának képessége a 293T sejtvonalat a modern vakcinafejlesztés teljes körű megoldásává teszi.

Organism

Emberi

Tissue

Vese

Applications

Oltóanyag-fejlesztés

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Humán embrionális vese 293T, 293tsA1609neo

Jellemzők

Age

Magzat

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

HEK293T sejtek | 300189

Szabályozási adatok

Citation	HEK293T (Cytion katalógusszám: 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Ez a HEK293T sejtvonal SV40 Large T antigén szekvenciákat tartalmaz, támogatva a transzfektált plazmidok magas szintű expresszióját és a hatékony víruscsomagolást. A konstrukciót humán embrionális vesesejtekbe integrálták. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA negatív, p53 pozitív
Tumorigenic	Meztelen egerekben

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 óra

HEK293T sejtek | 300189

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^4 sejt/cm ² körülbelül 4 nap alatt konfluens réteget képez.
Fluid renewal	hetente 2 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm ² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HEK293T sejtek | 300189

Thawing and
Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioürlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation
Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing
Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HEK293T sejtek | 300189

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.