

HEK293T-cellen | 300189

Algemene informatie

Description

HEK-293T, een sterk transfecteerbare afgeleide van de oudercel HEK-293, is een veelzijdig en krachtig hulpmiddel in de biotechnologie voor de productie van recombinante eiwitten en verschillende soorten vaccins.

HEK-293T cellen werden gegenereerd door embryonale nier 293 cellen te transfecteren met een plasmide dat codeert voor het SV40 groot T-antigeen. De oorspronkelijke HEK293 cellijn werd ontwikkeld uit de epitheelcellen van menselijk embryonaal nierweefsel, waarbij de transformatie plaatsvond in wat met name het 293e experiment was dat door de onderzoekers werd uitgevoerd.

Op het gebied van de ontwikkeling van vaccins zijn de 293T embryonale niercellen cruciaal voor de productie van virale vectoren, waaronder adenovirusvectoren. HEK293T-cellen worden onder specifieke kweekomstandigheden getransfecteerd met vectoren die adenovirale en retrovirale elementen bevatten, waaronder de SV40-replicatieoorsprong, wat leidt tot de productie van virusachtige deeltjes (VLP's).

De VLP's, zonder viraal genetisch materiaal, vormen de basis voor subunit- en VLP-vaccins. De recombinante eiwitproductie in 293T cellen wordt vergemakkelijkt door verschillende transfectiemethoden, waarbij de nadruk ligt op het genereren van AP fusie-eiwitten en andere soorten eiwitten die de antigene component van vaccins vormen.

De mogelijkheden voor genoom-engineering van de 293T-cellijn maken het mogelijk om expressieconstructen op maat te maken, waardoor de productie van virale vectoren verder wordt gestimuleerd. Dit, in combinatie met de mogelijkheid om eiwitten te produceren in suspensiecultuur of adherente omstandigheden, maakt de 293T cellijn een full-stack oplossing voor moderne vaccinontwikkeling.

Organism

Mens

Tissue

Nieren

Applications

Ontwikkeling van vaccins

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, menselijke embryonale nier 293T, 293tsA1609neo

Kenmerken

Age

Foetus

Gender

Vrouw

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

HEK293T-cellen | 300189

Regelgevende gegevens

Citation	HEK293T (Cytion catalogusnummer 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Deze HEK293T-celijn bevat SV40 Large T Antigen-sequenties voor expressie op hoog niveau van getransfecteerde plasmiden en efficiënte virale verpakking. Het construct is geïntegreerd in menselijke embryonale niercellen. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed	Vitronectine
Protein expression	CEA negatief, p53 positief
Tumorigenic	In naakte muizen

Omgaan met

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 uur

HEK293T-cellen | 300189

Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen
Seeding density	1×10^4 cellen/cm ² zal in ongeveer 4 dagen een confluent laag opleveren.
Fluid renewal	2 keer per week
Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 c ^{ellen} /cm ² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HEK293T-cellen | 300189

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HEK293T-cellen | 300189

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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