

HEK293T/17-cellen | 305117

Algemene informatie

Description

De 293T/17 cellijn is een geïmmortaliseerde variant van de HEK293 lijn, afgeleid van menselijke embryonale niercellen en veel gebruikt in onderzoek, met name in de studie en productie van retrovirale en lentivirale vectoren. Deze cellijn is aangepast om het SV40 grote T-antigeen tot expressie te brengen, waardoor de bruikbaarheid voor de productie van virale vectoren is toegenomen. De expressie van het SV40 grote T-antigeen is een belangrijke eigenschap waardoor deze cellen plasmiden met de SV40-replicatieoorsprong kunnen repliceren, waardoor de opbrengst van plasmide DNA in transiënte transfectieprocedures aanzienlijk toeneemt. Deze eigenschap is vooral gunstig voor de productie van virale vectoren.

293T/17 cellen zijn essentieel bij de productie van virale vectoren zoals retrovirussen en lentivirussen. Ze produceren efficiënt virale deeltjes dankzij hun vermogen om getransfecteerde plasmiden te amplificeren en de virale assemblage en vrijgave te ondersteunen. Dit maakt ze tot een vitaal hulpmiddel in gentherapie-onderzoek, waarbij deze vectoren worden gebruikt om genetisch materiaal in gastheercellen te brengen. De cellen vertonen een hoge transfectie-efficiëntie, wat cruciaal is voor de succesvolle introductie en expressie van vreemd DNA tijdens de vectorconstructie. Deze hoge efficiëntie maakt het mogelijk om genfuncties te bestuderen en effectief recombinante eiwitten te genereren.

De robuuste eigenschappen van de 293T/17 cellijn maken deze van onschatbare waarde voor zowel fundamenteel wetenschappelijk onderzoek als therapeutische toepassingen. Ze wordt veel gebruikt in de moleculaire biologie en genetische manipulatie voor eiwitexpressie, genfunctieanalyse en de ontwikkeling van nieuwe gentherapieën. De efficiëntie van de cellijn in het produceren van virale vectoren vergemakkelijkt experimenten waarbij genetisch materiaal moet worden toegediend, waardoor het een hoeksteen is op het gebied van virologie. De 293T/17 cellijn blijft een centrale rol spelen in het bevorderen van ons begrip van de genfunctie en het ontwikkelen van therapeutische interventies.

Organism

Mens

Tissue

Embryonale nier

Applications

Deze cellijn is een optimale keuze voor transfectie, high-throughput screening, toxicologie en de ontwikkeling van vaccins.

Synonyms

HEK293T/17, HEK-293T/17, HEK 293T/17

Kenmerken

Age

Foetus

Gender

Vrouw

Morphology

Epitheel

HEK293T/17-cellen | 305117

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HEK293T/17 (Cytion catalogusnummer 305117)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1926

GMO Status GMO-S1: Deze HEK293T/17-celijn bevat SV40 Large T Antigen-sequenties, waardoor de replicatie van het plasmide en de verpakkingsefficiëntie worden verbeterd. Het insert is stabiel aanwezig in getransformeerde embryonale niercellen. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression SV40 T-antigeen**Viruses** SV40 (brengt SV40 T-antigeen tot expressie)

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

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.

HEK293T/17-cellen | 305117

Split ratio 1:2 tot 1:4

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (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.

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%_{CO2}, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

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

HEK293T/17-cellen | 305117

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.

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: 12,14
D16S539: 9,13
D5S818: 8,9
D7S820: 11
TH01: 7,9.3
TPOX: 11
vWA: 16,19
D3S1358: 15,16,17
D21S11: 28,30.2
D18S51: 17,18
Penta E: 7,15
Penta D: 9,10
D8S1179: 11,12,14
FGA: 23
D6S1043: 11
D2S1338: 19
D12S391: 19,21
D19S433: 18