

HEK-293T SV40gp6 (HEK-293TT) Cell Line

HEK-293T SV40gp6 (HEK-293TT)过表达细胞株

产品信息

产品名称	产品编号	规格
HEK-293T SV40gp6 (HEK-293TT) Cell Line	41108ES03	1 mL (5E6 Cell/mL)

产品描述

HEK-293T SV40gp6 (HEK-293TT) Cell Line 是一种能过表达 SV40 Large T 的细胞株，特异性的与人乳头瘤病毒 (HPV) 结合，能很好的模拟 HPV 病毒感染细胞的路径。可用于中和抗体滴度测定、抑制剂筛选、病毒入侵研究以及 HPV 疫苗开发。本细胞系是将 SV40 Large T 过表达慢病毒感染 293T 细胞并筛选得到的稳定株。

保存方法

-80°C保存，如长期储存需保存-196°C 以下。

使用方法

1、细胞复苏

- 37°C水浴锅预热复苏培养基，加入预热后的复苏培养基 5 mL 至 15 mL 离心管。
- 从液氮中取出冻存细胞并迅速放入 37°C恒温水浴锅，将细胞液面浸至水面以下轻轻摇动解冻，直到刚刚融化（通常 2-3 分钟）。
- 用 70%乙醇擦拭冻存管外部以降低污染的几率。在生物安全柜或超净台中将冻存管中的细胞悬液转移到步骤 a) 的离心管中，轻轻混匀，176 × g，离心 3 min，使细胞沉淀，弃上清。
- 使用 1 mL 复苏培养基重悬，可取出部分使用台盼蓝染色计数活细胞，活细胞 $\geq 3 \times 10^6$ cells/mL。
- 通过补加复苏培养基的形式，调整细胞密度到 $1\sim 2 \times 10^5$ cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养皿中。

注：

细胞复苏培养基：	DMEM+10% FBS+1%双抗
细胞生长培养基：	DMEM+10% FBS+1%双抗+0.75 μ g/mL Puromycin
细胞冻存液：	90% FBS+10% DMSO

2、细胞传代

注：细胞复苏后的 1 至 2 代，使用复苏培养基，待细胞状态稳定后，再更换为含有抗生素的生长培养基。

- 细胞为上皮细胞，贴壁生长。培养箱中孵育 16-24 h 后，镜下观察细胞贴壁情况，当细胞密度大于 60%，即可进行细胞传代。推荐细胞传代比例为 1:3-1:4，1-2 天传代。
- 将皿或培养瓶中的培养液弃去，10 cm 皿加 2 mL PBS 润洗 1 次。
- 弃 PBS，加 1 mL 0.25% Trypsin-EDTA 消化液，37°C 消化 30-60 s，显微镜下观察。
- 待细胞变圆，细胞间隙明显，部分细胞刚开始脱离瓶壁时，加 1 mL 左右生长培养基混匀终止消化，将细胞小心吹打下来，176 × g 室温离心 3 min。弃上清，细胞沉淀用生长培养基重悬，根据传代前细胞密度分盘（根据培养皿面积和细胞密度计算，传代后细胞密度为 15-20%）

3、细胞冻存

- a) 使用 $176 \times g$, 3 min 离心收集细胞。使用预冷细胞冻存液 (90% FBS + 10% DMSO) 重悬细胞, 细胞密度调整为 5×10^6 cells/mL, 每管 1 mL 分装到细胞冻存管中。
- b) 拧紧盖子, 适当标记后, 将冻存管置于梯度降温盒中, -80°C 下保存至少 1 天, 尽快转移至液氮中。

细胞验证

1、不同亚型验证结果

Luminescence after infection of HEK-293T SV40gp6 (HEK-293TT) cell line with 1 μL of pseudovirus from different HPV subtypes

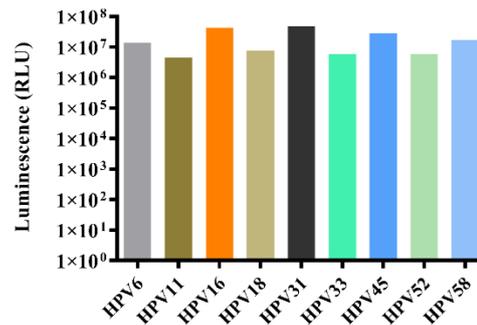


Fig 1. 使用 1 μL 不同 HPV 亚型的假病毒感染 HEK-293T SV40gp6 (HEK-293TT) Cell Line 后的检测结果

2、稳定性验证结果

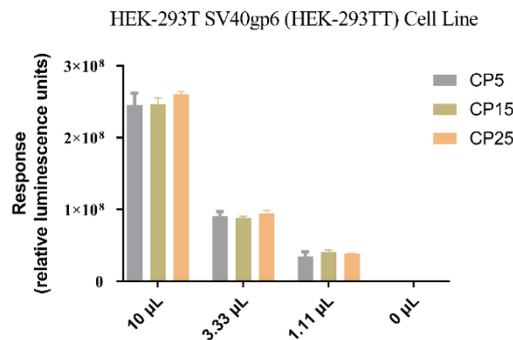


Fig 2. 使用梯度稀释 HPV16 假病毒感染 P5、P15、P25 三个不同代次的 HEK-293T SV40gp6 (HEK-293TT) Cell Line 检测结果表明细胞的稳定性良好, 不同代次的细胞被 HPV 感染的 luciferase 数值差异不大

3、SV40T 氨基酸序列 (NP_043127.1)

MDKVLNREESLQLMDLLGLERSAWGNIPLMRKAYLKKCKEFHPDKGGDEEKMKKMNTLYKKMEDGVKYAHQPDFGGF
 WDATEIPTYGTDEWEQWWNAFNEENLFCSEEMPSSDDEATADSQHSSTPPKPKKRKVEDPKDFPSELLSFLSHAVFSNRTLACF
 AIYTTKEKAALLYKKIMEKYSVTFISRHNNSYNHNILFFLTPHRHRVSAINNYAQKLCFTSFLICKGVNKEYLMYSALTRDPFSV
 IEESLPGGLKEHDFNPEEAETKQVSWKLVTEYAMETKCDDVLLLLGMYLEFQYSFEMCLKCIKKEQPESHYKYHEKHIANA
 AIFADSKNQKTICQAVDTVLAKKRVDLQLTREQMLTNRFDLLDRMDIMFGSTGSADIEEWMAGVAWLHCLLPKMDSV
 VYDFLCKMVYNIPKKRYWLFKGPIDSGKTTLAAALLELCGGKALNVNPLDRLNFELGVAIDQFLVVFEDVKGTGGESRDL
 PSGQGINNLDNLRDYLDGSVKVNLEKKHLNKRQTIFPPGIVTMNEYSVPKTLQARFVKQIDFRPKDYLVKHLERSEFLLEKR
 IIQSGIALLLMLIWYRPVAEFAQSIQSRIVEWKERLDKEFSLSVYQKMKFNAMGIGVLDWLRNSDDDDDEDSQENADKNED

GGEKNMEDSGHETGIDSQSQGSFQAPQSSQSVHDHNQPYHICRGFTCFKKPPTPPPEPET

注意事项

- 1) 细胞系产品干冰运输。
- 2) 接触产品请带手套。请收到产品立即确认产品是否为冻存状态。
- 3) 本产品相关实验，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。
- 4) 本产品仅作研究用途！