

Células HEK293T | 300189

Información general

Description

Las células HEK 293T, un derivado altamente transfectable de la célula parental HEK 293, destacan como una herramienta versátil y potente en el campo de la biotecnología para la producción de proteínas recombinantes y diversos tipos de vacunas.

Las células HEK-293T se generaron transfectando células embrionarias de riñón 293 con un plásmido que codifica el antígeno SV40 T grande. La línea celular HEK293 original se desarrolló a partir de las células epiteliales del tejido renal embrionario humano, y su transformación se produjo en lo que fue notablemente el experimento 293 realizado por los investigadores.

En el ámbito del desarrollo de vacunas, las células de riñón embrionario 293T son fundamentales para la producción de vectores virales, incluidos los vectores de adenovirus. Las células HEK293T, en condiciones de cultivo específicas, se transfectan con vectores portadores de elementos adenovirales y retrovirales, incluido el origen de replicación del SV40, lo que conduce a la producción de partículas similares a virus (VLP).

Las VLP, desprovistas de material genético vírico, son fundamentales para constituir la base de las vacunas basadas en subunidades y VLP. La producción de proteínas recombinantes en células 293T se facilita mediante diversos métodos de transfección, con énfasis en la generación de proteínas de fusión AP y otros tipos de proteínas que forman el componente antigénico de las vacunas.

Las capacidades de ingeniería genómica de la línea celular 293T permiten personalizar las construcciones de expresión, lo que impulsa aún más la producción de vectores virales. Esto, unido a la capacidad de producir proteínas en cultivo en suspensión o en condiciones adherentes, convierte a la línea celular 293T en una solución completa para el desarrollo de vacunas modernas.

Organism Humano

Tissue Riñón

Applications Desarrollo de vacunas

Synonyms Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Riñón embrionario humano 293T, 293tsA1609neo

Características

Age Feto

Gender Mujer

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Adherente

Células HEK293T | 300189

Datos reglamentarios

Citation	HEK293T (número de catálogo 300189 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Esta línea celular HEK293T contiene el virus SV40, lo que permite una expresión de alto nivel de los plásmidos transfectados y un empaquetamiento viral eficaz. El constructo está integrado en células renales embrionarias humanas. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Receptors expressed	Vitronectina
Protein expression	CEA negativo, p53 positivo
Tumorigenic	En ratones desnudos

Manejo de

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)
Supplements	Suplementar el medio con un 10% de FBS y un 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 horas

Células HEK293T | 300189

Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:3 a 1:4
Seeding density	1×10^4 células/cm ² producirán una capa confluyente en aproximadamente 4 días.
Fluid renewal	2 veces por semana
Post-Thaw Recovery	Después de descongelar, siembre las células a 5×10^4 células/cm ² y deje que las células se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células HEK293T | 300189**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

**Freezing
Procedure**

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células HEK293T | 300189**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular**Sterility**

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

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