Product sheet

Cellules HEK293T | 300189

Informations générales

Description	HEK 293T, un dérivé hautement transfectable de la cellule parentale HEK 293, se distingue comme un outil polyvalent et puissant dans le domaine de la biotechnologie pour la production de protéines recombinantes et de divers types de vaccins. Les cellules HEK-293T ont été générées en transfectant des cellules 293 de rein embryonnaire avec un plasmide codant pour l'antigène T large du SV40. La lignée cellulaire HEK293 originale a été développée à partir des cellules épithéliales du tissu rénal embryonnaire humain, et sa transformation s'est produite lors de ce qui était notamment la 293e expérience menée par les chercheurs. Dans le domaine du développement de vaccins, les cellules rénales embryonnaires 293T sont essentielles pour la production de vecteurs viraux, y compris les vecteurs adénoviraux. Les cellules HEK293T, dans des conditions de culture spécifiques, sont transfectées avec des vecteurs portant des éléments adénoviraux et rétroviraux, y compris l'origine de réplication SV40, ce qui conduit à la production de particules semblables à des virus (VLP). Les VLP, dépourvues de matériel génétique viral, sont essentielles pour constituer la base des vaccins à base de sous-unités et de VLP. La production de protéines recombinantes dans les cellules 293T est facilitée par diverses méthodes de transfection, l'accent étant mis sur la production de protéines de fusion AP et d'autres types de protéines qui constituent la composante antigénique des vaccins. Les capacités d'ingénierie du génome de la lignée cellulaire 293T permettent de personnaliser les constructions d'expression, ce qui stimule encore la production de vecteurs viraux. Associée à la capacité de produire des protéines dans des conditions de culture en suspension ou d'adhérence, la lignée cellulaire 293T constitue une solution complète pour le développement de vaccins modernes.
Organism	Humain
Tissue	Rein
Applications	Développement de vaccins
Synonyms	Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, rein embryonnaire humain 293T, 293tsA1609neo

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Femme
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Adhérent

Cellules HEK293T | 300189

Données réglementaires

Citation	HEK293T (numéro de catalogue Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire HEK293T contient le virus SV40, ce qui favorise une expression à haut niveau des plasmides transfectés et un encapsidage viral efficace. La construction est intégrée dans des cellules rénales embryonnaires humaines. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Vitronectine
Protein expression	CEA négatif, p53 positif
Tumorigenic	Chez la souris nude

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO3, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 heures

Cellules HEK293T | 300189

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de 1:3 à 1:4 est recommandé
Seeding density	1 x 10^4 cellules/cm^2 donnera une couche confluente en environ 4 jours.
Fluid renewal	2 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à raison de 5 x 10^4 cellules/cm^2 et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules HEK293T | 300189

Thawing and Culturing Cells	1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport. 2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire. 3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace. 4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir. 5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement. 6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel. 7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules. 8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HEK293T | 300189

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.
Profil 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