

Cellule HEK293T | 300189

Informazioni generali

Description

La HEK 293T, un derivato altamente trasfettabile della cellula parentale HEK 293, si distingue come strumento versatile e potente nel campo delle biotecnologie per la produzione di proteine ricombinanti e di vari tipi di vaccini.

Le cellule HEK-293T sono state generate trasfettando cellule embrionali di rene 293 con un plasmide che codifica l'antigene SV40 large T. La linea cellulare HEK293 originale è stata sviluppata a partire dalle cellule epiteliali del tessuto renale embrionale umano e la sua trasformazione è avvenuta in quello che è stato in particolare il 293° esperimento condotto dai ricercatori.

Nel campo dello sviluppo dei vaccini, le cellule 293T del rene embrionale sono fondamentali per la produzione di vettori virali, compresi i vettori di adenovirus. Le cellule HEK293T, in condizioni di coltura specifiche, vengono trasfettate con vettori che trasportano elementi adenovirali e retrovirali, tra cui l'origine di replicazione SV40, portando alla produzione di particelle simil-virali (VLP).

Le VLP, prive di materiale genetico virale, sono fondamentali per costituire la base dei vaccini a subunità e a VLP. La produzione di proteine ricombinanti nelle cellule 293T è facilitata da vari metodi di trasfezione, con particolare attenzione alla generazione di proteine di fusione AP e di altri tipi di proteine che costituiscono la componente antigenica dei vaccini.

Le capacità di ingegneria genomica della linea cellulare 293T consentono di personalizzare i costrutti di espressione, favorendo ulteriormente la produzione di vettori virali. Questo, unito alla capacità di produrre proteine in coltura in sospensione o in condizioni aderenti, rende la linea cellulare 293T una soluzione completa per lo sviluppo di vaccini moderni.

Organism

Umano

Tissue

Rene

Applications

Sviluppo di vaccini

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Rene embrionale umano 293T, 293tsA1609neo

Caratteristiche

Age

Feto

Gender

Donna

Morphology

Simile all'epitelio

Growth properties

Aderente

Cellule HEK293T | 300189

Dati normativi

Citation	HEK293T (catalogo Cytion numero 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare HEK293T contiene il virus SV40, il che favorisce un'elevata espressione dei plasmidi trasfettati e un efficiente impacchettamento virale. Il costrutto è integrato nelle cellule renali embrionali umane. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe variare in altri paesi

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Vitronectina
Protein expression	CEA negativo, p53 positivo
Tumorigenic	In topi nudi

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 ore

Cellule HEK293T | 300189

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4
Seeding density	1×10^4 cellule/cm ² produrrà uno strato confluento in circa 4 giorni
Fluid renewal	2 volte a settimana
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm ² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HEK293T | 300189

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HEK293T | 300189

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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