

Komórki HEK293T | 300189**Informacje ogólne****Description**

HEK 293T, wysoce transfekowalna pochodna macierzystej komórki HEK 293, wyróżnia się jako wszechstronne i potężne narzędzie w dziedzinie biotechnologii do produkcji rekombinowanych białek i różnego rodzaju szczepionek.

Komórki HEK-293T zostały wygenerowane przez transfekcję embrionalnych komórek nerki 293 plazmidem kodującym antygen SV40 large T. Oryginalna linia komórkowa HEK293 została opracowana z komórek nabłonkowych ludzkiej embrionalnej tkanki nerkowej, a jej transformacja nastąpiła w 293. eksperymencie przeprowadzonym przez naukowców.

W dziedzinie opracowywania szczepionek embrionalne komórki nerkowe 293T odgrywają kluczową rolę w produkcji wektorów wirusowych, w tym wektorów adenowirusowych. Komórki HEK293T, w określonych warunkach hodowli, są transfekowane wektorami niosącymi elementy adenowirusowe i retrowirusowe, w tym pochodzenie replikacji SV40, co prowadzi do produkcji cząstek wirusopodobnych (VLP).

Cząstki VLP, pozbawione materiału genetycznego wirusa, są kluczem do stworzenia podstawy szczepionek podjednostkowych i opartych na VLP. Produkcja rekombinowanych białek w komórkach 293T jest ułatwiona dzięki różnym metodom transfekcji, z naciskiem na wytwarzanie białek fuzyjnych AP i innych typów białek, które tworzą antygenowy składnik szczepionek.

Możliwości inżynierii genomu linii komórkowej 293T pozwalają na dostosowanie konstruktów ekspresji, co dodatkowo zwiększa produkcję wektorów wirusowych. To, w połączeniu ze zdolnością do produkcji białek w hodowli zawieszinowej lub w warunkach adherentnych, sprawia, że linia komórkowa 293T jest kompleksowym rozwiązaniem dla rozwoju nowoczesnych szczepionek.

Organism Człowiek**Tissue** Nerka**Applications** Rozwój szczepionek**Synonyms** Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Human Embryonic Kidney 293T, 293tsA1609neo**Charakterystyka****Age** Płód**Gender** Kobieta**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Adherent

Komórki HEK293T | 300189

Dane regulacyjne

Citation	HEK293T (numer katalogowy Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa HEK293T zawiera wirusa SV40, co sprzyja wysokiemu poziomowi ekspresji transfekowanych plazmidów oraz wydajnemu pakowaniu wirusowemu. Konstrukt jest zintegrowany z komórkami ludzkiej embrionalnej nerki. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Witronektyna
Protein expression	CEA ujemny, p53 dodatni
Tumorigenic	U nagich myszy

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 godzin

Komórki HEK293T | 300189

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4
Seeding density	1×10^4 komórek/cm ² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.
Fluid renewal	2 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HEK293T | 300189

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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