

Celule HEK293T | 300189

Informații generale

Description

HEK 293T, un derivat foarte transfectabil al celei parentale HEK 293, se remarcă ca un instrument versatil și puternic în domeniul biotehnologiei pentru producerea de proteine recombinante și diverse tipuri de vaccinuri.

Celulele HEK-293T au fost generate prin transfectarea celulelor 293 de rinichi embrionar cu o plasmidă care codifică antigenul T mare SV40. Linia celulară originală HEK293 a fost dezvoltată din celulele epiteliale ale țesutului renal embrionar uman, transformarea sa având loc în ceea ce a fost, în special, cel de-al 293-lea experiment efectuat de cercetători.

În domeniul dezvoltării vaccinurilor, celulele 293T de rinichi embrionar sunt esențiale pentru producerea vectorilor virali, inclusiv a vectorilor adenovirus. Celulele HEK293T, în condiții de cultură specifice, sunt transfectate cu vectori purtând elemente adenovirale și retrovirale, inclusiv originea de replicare SV40, ceea ce duce la producerea de particule asemănătoare virusurilor (VLP).

VLP-urile, lipsite de material genetic viral, sunt esențiale pentru formarea bazei vaccinurilor pe bază de subunități și VLP-uri. Producția de proteine recombinante în celulele 293T este facilitată de diverse metode de transfecție, cu accent pe generarea de proteine de fuziune AP și alte tipuri de proteine care formează componenta antigenică a vaccinurilor.

Capacitățile de inginerie genomică ale liniei celulare 293T permit personalizarea construcțiilor de expresie, stimulând în continuare producția de vectori virali. Acest lucru, împreună cu capacitatea de a produce proteine în condiții de cultură în suspensie sau aderentă, face din linia celulară 293T o soluție completă pentru dezvoltarea modernă a vaccinurilor.

Organism Om

Tissue Rinichi

Applications Dezvoltarea de vaccinuri

Synonyms Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, rinichi embrionar uman 293T, 293tsA1609neo

Caracteristici

Age Fetusul

Gender Femei

Morphology De tip epitelial

Growth properties Aderent

Celule HEK293T | 300189

Date de reglementare

Citation	HEK293T (număr de catalog Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Această linie celulară HEK293T conține SV40, favorizând expresia la nivel ridicat a plasmidelor transfectate și împachetarea virală eficientă. Constructul este integrat în celule renale embrionare umane. Această clasificare se aplică numai pe teritoriul Germaniei și poate diferi în alte țări

Date biomoleculare

Receptors expressed	Vitronectină
Protein expression	CEA negativ, p53 pozitiv
Tumorigenic	La șoarecii nude

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 de ore
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Celule HEK293T | 300189

Seeding density 1×10^4 celule/cm² vor forma un strat confluent în aproximativ 4 zile.

Fluid renewal de 2 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosferă umidificată.

Celule HEK293T | 300189

Flask Coating Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.