

Клітини HEK293T | 300189

Загальна інформація

Description

HEK 293T, високотрансфектабельна похідна батьківської клітини HEK 293, виділяється як універсальний і потужний інструмент в галузі біотехнології для виробництва рекомбінантних білків і різних типів вакцин.

Клітини HEK-293T були отримані шляхом трансфекції ембріональних клітин нирки 293 плазмідом, що кодує великий Т-антиген SV40. Оригінальна клітинна лінія HEK293 була розроблена з епітеліальних клітин ембріональної тканини нирки людини, а її трансформація відбувалася в 293-му експерименті, проведеному дослідниками.

У сфері розробки вакцин клітини ембріональної нирки 293T є ключовими для виробництва вірусних векторів, включаючи аденовірусні вектори. Клітини HEK293T за певних умов культивування трансфікують векторами, що містять аденовірусні та ретровірусні елементи, в тому числі реплікацію SV40, що призводить до утворення вірусоподібних частинок (VLPs).

VLP, позбавлені вірусного генетичного матеріалу, є ключовими у формуванні основи субдинічних вакцин та вакцин на основі VLP. Виробництву рекомбінантних білків у клітинах лінії 293T сприяють різні методи трансфекції, з акцентом на генерування білків злиття AP та інших типів білків, які формують антигенний компонент вакцин.

Можливості геномної інженерії клітин лінії 293T дозволяють кастомізувати експресійні конструкції, що ще більше прискорює виробництво вірусних векторів. У поєднанні зі здатністю продукувати білки в суспензійній культурі або в адгезивних умовах, це робить клітинну лінію 293T універсальним рішенням для розробки сучасних вакцин.

Organism Людина

Tissue Нирка

Applications Розробка вакцин

Synonyms Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, людська ембріональна нирка 293T, 293tsA1609neo

Характеристики

Age Плід

Gender Жінка

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Адепт

Клітини HEK293T | 300189

Нормативні дані

Citation	HEK293T (номер за каталогом Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія HEK293T містить вірус SV40, що забезпечує високий рівень експресії трансфікованих плазмід та ефективне упакування вірусу. Конструкт інтегрований у клітини ембріональної нирки людини. Ця класифікація діє лише на території Німеччини та може відрізнятися в інших країнах

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	Вітронектин
Protein expression	CEA негативний, p53 позитивний
Tumorigenic	У голих мишей

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO ₃ , w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	30 годин

Клітини HEK293T | 300189

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини акутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density 1×10^4 клітин/ cm^2 дасть злитий шар приблизно за 4 дні

Fluid renewal 2 рази на тиждень

Post-Thaw Recovery Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/ cm^2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини HEK293T | 300189

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини HEK293T | 300189

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.