Product sheet

Cellules HEK293T | 300189

Renseignements généraux

Description	La lignée HEK 293T, un dérivé hautement transfectable de la lignée cellulaire parentale HEK 293, s'impose 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 par transfection de cellules rénales embryonnaires 293 avec un plasmide codant pour le grand antigène T du SV40. La lignée cellulaire HEK-293 originale a été développée à partir de cellules épithéliales de tissu rénal embryonnaire humain; sa transformation a eu lieu lors de la 293e expérience menée par les chercheurs. Dans le domaine du développement des vaccins, les cellules rénales embryonnaires 293T jouent un rôle central dans la production de vecteurs viraux, notamment 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 du SV40, ce qui conduit à la production de particules pseudo-virales (VLP). Les VLP, dépourvues de matériel génétique viral, jouent un rôle clé dans la conception des vaccins à sous-unités et à base de VLP. La production de protéines recombinantes dans les cellules 293T est facilitée par diverses méthodes de transfection, notamment pour la génération de protéines de fusion AP et d'autres types de protéines constituant la composante antigénique des vaccins. Les capacités d'ingénierie génomique de la lignée cellulaire 293T permettent la personnalisation des constructions d'expression, ce qui stimule davantage la production de vecteurs viraux. Cette caractéristique, combinée à la capacité de produire des protéines en culture en suspension ou en conditions d'adhérence, fait de la lignée cellulaire 293T une solution complète pour le développement moderne de vaccins.
Organism	Humain
Tissue	Rein
Applications	Mise au point 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

Cellules HEK293T | 300189

Growth properties	Adepte

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 ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Vitronectine
Protein expression	CEA négatif, p53 positif
Tumorigenic	Chez les souris nues

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de $NaHCO_3$, et EBSS (référence Cytion 820100a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 heures

Cellules HEK293T | 300189

Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	Une concentration de 1×10^4 cellules/cm^2 permettra d'obtenir une couche confluente en environ 4 jours
Fluid renewal	2 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à une densité de 5×10^4 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 (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la 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 par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.