

Tế bào HEK293T | 300189

Thông tin chung

Description

HEK 293T, một dòng tế bào con có khả năng chuyển gen cao của dòng tế bào gốc HEK 293, nổi bật như một công cụ đa năng và mạnh mẽ trong lĩnh vực công nghệ sinh học cho sản xuất protein tái tổ hợp và các loại vắc-xin khác nhau.

Tế bào HEK-293T được tạo ra bằng cách chuyển gen tế bào thận phôi 293 với plasmid mã hóa kháng nguyên T lớn SV40. Dòng tế bào HEK293 ban đầu được phát triển từ tế bào biểu mô của mô thận phôi người, với quá trình biến đổi diễn ra trong thí nghiệm thứ 293 do các nhà nghiên cứu thực hiện.

Trong lĩnh vực phát triển vắc-xin, các tế bào thận phôi 293T đóng vai trò quan trọng trong sản xuất vectơ virus, bao gồm vectơ adenovirus. Các tế bào HEK293T, dưới điều kiện nuôi cấy cụ thể, được chuyển gen bằng các vectơ chứa các yếu tố adenovirus và retrovirus, bao gồm vùng khởi đầu sao chép SV40, dẫn đến sản xuất các hạt giống virus (VLPs).

Các VLPs, không chứa vật liệu di truyền virus, là yếu tố quan trọng trong việc hình thành cơ sở cho các loại vắc-xin dựa trên tiểu đơn vị và VLPs. Việc sản xuất protein tái tổ hợp trong tế bào 293T được thực hiện thông qua các phương pháp chuyển gen khác nhau, với trọng tâm là tạo ra các protein AP fusion và các loại protein khác tạo thành thành phần kháng nguyên của vắc-xin.

Khả năng công nghệ gen của dòng tế bào 293T cho phép tùy chỉnh các cấu trúc biểu hiện, từ đó tăng cường sản xuất các vectơ virus. Kết hợp với khả năng sản xuất protein trong môi trường nuôi cấy treo hoặc điều kiện bám dính, dòng tế bào 293T trở thành giải pháp toàn diện cho phát triển vắc-xin hiện đại.

Organism

Con người

Tissue

Thận

Applications

Phát triển vắc-xin

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Tế bào thận phôi người 293T, 293tsA1609neo

Đặc điểm

Age

Thai nhi

Gender

Nữ

Morphology

Tương tự biểu mô

Growth properties

Người tuân thủ

Tế bào HEK293T | 300189

Dữ liệu quy định

Citation	HEK293T (Số catalog Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào HEK293T này chứa SV40, hỗ trợ sự biểu hiện ở mức cao của các plasmid được chuyển gen và quá trình đóng gói virus hiệu quả. Phân tử này được tích hợp vào các tế bào thận phôi người. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác biệt ở các quốc gia khác

Dữ liệu sinh học phân tử

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA âm tính, p53 dương tính
Tumorigenic	Ở chuột không lông

Xử lý

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), chứa: 2 mM L-Glutamine, chứa: 2,2 g/L NaHCO ₃ , chứa: EBSS (Số hiệu sản phẩm Cytion 820100a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 giờ
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Tế bào HEK293T | 300189

Seeding density 1 x 10⁴ tế bào/cm² sẽ tạo thành một lớp tế bào dày đặc trong khoảng 4 ngày.

Fluid renewal 2 lần mỗi tuần

Post-Thaw Recovery Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5 x 10⁴ tế bào/cm² và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, môi trường ẩm.

Tế bào HEK293T | 300189

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.