

Клетки HEK293T | 300189

Обща информация

Description

HEK 293T, силно трансфектируемо производно на родителската клетка HEK 293, се откроява като универсален и мощен инструмент в областта на биотехнологиите за производство на рекомбинантни протеини и различни видове ваксини.

Клетките HEK-293T са генерирани чрез трансфектиране на ембрионални бъбречни клетки 293 с плазмид, кодиращ големия Т антиген SV40. Първоначалната клетъчна линия HEK293 е разработена от епителни клетки на човешка ембрионална бъбречна тъкан, като трансформацията ѝ се случва в 293-ия експеримент, проведен от изследователите.

В сферата на разработването на ваксини ембрионалните бъбречни клетки 293T са ключови за производството на вирусни вектори, включително аденовирусни вектори. При специфични условия на култивиране клетките HEK293T се трансфектират с вектори, носещи аденовирусни и ретровирусни елементи, включително произхода на репликация SV40, което води до производството на вирусоподобни частици (VLP).

VLP, лишени от вирусен генетичен материал, са ключови за формирането на основата на субчастични и VLP-базирани ваксини. Производството на рекомбинантни протеини в клетки 293T се улеснява от различни методи за трансфекция, като се набляга на генерирането на AP фюжън протеини и други видове протеини, които формират антигенния компонент на ваксините.

Възможностите за геномно инженерство на клетъчната линия 293T позволяват персонализиране на експресионните конструкции, което допълнително повишава производството на вирусни вектори. Това, в съчетание с възможността за производство на протеини в суспензионна култура или в условия на адхезия, превръща клетъчната линия 293T в пълноценно решение за разработване на съвременни ваксини.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Applications Разработване на ваксини

Synonyms Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Човешки ембрионален бъбрек 293T, 293tsA1609neo

Характеристики

Age Плод

Gender Жена

Morphology Подобни на епител

Клетки HEK293T | 300189

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HEK293T (каталожен номер 300189 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0063**GMO Status** GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293T съдържа секвенции на големия антиген SV40, което поддържа високо ниво на експресия на трансфектирани плазмиди и ефективно пакетиране на вируси. Конструкцията е интегрирана в човешки ембрионални бъбречни клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни

Биомолекулярни данни

Receptors expressed Витронектин**Protein expression** CEA отрицателен, p53 положителен**Tumorigenic** При голи мишки

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 часа

Клетки HEK293T | 300189

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm² ще дадат конфулентен слой за около 4 дни

Fluid renewal 2 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HEK293T | 300189

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEK293T | 300189

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.