

Κύτταρα HEK293T | 300189

Γενικές πληροφορίες

Description

Το HEK 293T, ένα εξαιρετικά μεταγχιζόμενο παράγωγο του γονικού κυττάρου HEK 293, ξεχωρίζει ως ένα ευέλικτο και ισχυρό εργαλείο στον τομέα της βιοτεχνολογίας για την παραγωγή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών και διαφόρων τύπων εμβολίων.

Τα κύτταρα HEK-293T δημιουργήθηκαν με τη διαμόλυνση εμβρυϊκών νεφρικών κυττάρων 293 με ένα πλασμίδιο που κωδικοποιεί το μεγάλο αντιγόνο SV40 T. Η αρχική κυτταρική σειρά HEK293 αναπτύχθηκε από τα επιθηλιακά κύτταρα του ανθρώπινου εμβρυϊκού νεφρικού ιστού, με τον μετασχηματισμό της να λαμβάνει χώρα σε αυτό που ήταν συγκεκριμένα το 293ο πείραμα που διεξήγαγαν οι ερευνητές.

Στο πεδίο της ανάπτυξης εμβολίων, τα κύτταρα 293T των εμβρυϊκών νεφρών είναι καθοριστικής σημασίας για την παραγωγή ιικών φορέων, συμπεριλαμβανομένων των φορέων αδενοϊού. Τα κύτταρα HEK293T, υπό ειδικές συνθήκες καλλιέργειας, διαμολύνεται με φορείς που φέρουν αδενοϊικά και ρετροϊικά στοιχεία, συμπεριλαμβανομένης της προέλευσης αντιγραφής SV40, οδηγώντας στην παραγωγή σωματιδίων που μοιάζουν με ιούς (VLP).

Τα VLPs, απαλλαγμένα από ιικό γενετικό υλικό, αποτελούν τη βάση των εμβολίων που βασίζονται σε υπομονάδες και VLPs. Η παραγωγή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών σε κύτταρα 293T διευκολύνεται με διάφορες μεθόδους διαμόλυνσης, με έμφαση στη δημιουργία πρωτεϊνών σύντηξης AP και άλλων τύπων πρωτεϊνών που αποτελούν το αντιγονικό συστατικό των εμβολίων.

Οι δυνατότητες γονιδιωματικής μηχανικής της κυτταρικής σειράς 293T επιτρέπουν την προσαρμογή των κατασκευών έκφρασης, ενισχύοντας περαιτέρω την παραγωγή ιικών φορέων. Αυτό, σε συνδυασμό με τη δυνατότητα παραγωγής πρωτεϊνών σε συνθήκες καλλιέργειας εναιωρήματος ή προσκόλλησης, καθιστά την κυτταρική σειρά 293T μια ολοκληρωμένη λύση για τη σύγχρονη ανάπτυξη εμβολίων.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Νεφρός

Applications Ανάπτυξη εμβολίων

Synonyms Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Ανθρώπινο εμβρυϊκό νεφρό 293T, 293tsA1609neo

Χαρακτηριστικά

Age Έμβρυο

Gender Γυναίκα

Morphology Επιθηλιοειδής

Κύτταρα HEK293T | 300189

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation HEK293T (αριθμός καταλόγου Cytion 300189)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0063**GMO Status** GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά HEK293T περιέχει αλληλουχίες του μεγάλου αντιγόνου SV40 Large T, υποστηρίζοντας την έκφραση υψηλού επιπέδου των διαμολυσμένων πλασμιδίων και την αποτελεσματική συσκευασία του ιού. Το κατασκεύασμα ενσωματώνεται σε ανθρώπινα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed Βιτρονεκτίνη**Protein expression** CEA αρνητικό, p53 θετικό**Tumorigenic** Σε γυμνά ποντίκια

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 ώρες

Κύτταρα HEK293T | 300189

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Seeding density 1×10^4 κύτταρα/cm² θα αποδώσουν ένα συρρέον στρώμα σε περίπου 4 ημέρες

Fluid renewal 2 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HEK293T | 300189

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HEK293T | 300189

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.