

Sel HEK293T | 300189

Informasi umum

Description

HEK 293T, turunan yang sangat mudah ditransfeksi dari sel induk HEK 293, menonjol sebagai alat serbaguna dan ampuh di bidang bioteknologi untuk produksi protein rekombinan dan berbagai jenis vaksin.

Sel HEK-293T dihasilkan dengan mentransfeksi sel ginjal 293 embrionik dengan plasmid yang mengkode antigen T besar SV40. Garis sel HEK293 yang asli dikembangkan dari sel epitel jaringan ginjal embrionik manusia, dengan transformasinya terjadi pada percobaan ke-293 yang dilakukan oleh para peneliti.

Dalam bidang pengembangan vaksin, sel ginjal embrionik 293T sangat penting untuk produksi vektor virus, termasuk vektor adenovirus. Sel HEK293T, dalam kondisi kultur tertentu, ditransfeksi dengan vektor yang membawa elemen adenoviral dan retroviral, termasuk asal replikasi SV40, yang mengarah pada produksi partikel mirip virus (VLP).

VLP, yang tidak memiliki materi genetik virus, adalah kunci dalam membentuk dasar vaksin berbasis subunit dan VLP. Produksi protein rekombinan dalam sel 293T difasilitasi oleh berbagai metode transfeksi, dengan penekanan pada pembuatan protein fusi AP dan jenis protein lain yang membentuk komponen antigenik vaksin.

Kemampuan rekayasa genom lini sel 293T memungkinkan penyesuaian konstruksi ekspresi, yang selanjutnya meningkatkan produksi vektor virus. Hal ini, ditambah dengan kemampuan untuk memproduksi protein dalam kultur suspensi atau kondisi yang melekat, menjadikan lini sel 293T sebagai solusi lengkap untuk pengembangan vaksin modern.

Organism

Manusia

Tissue

Ginjal

Applications

Pengembangan vaksin

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Ginjal Embrionik Manusia 293T, 293tsA1609neo

Karakteristik

Age

Janin

Gender

Perempuan

Morphology

Seperti epitel

Growth properties

Patuh

Sel HEK293T | 300189

Data Peraturan

Citation	HEK293T (Nomor katalog Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Garis sel HEK293T ini mengandung sekuens Antigen T Besar SV40, yang mendukung ekspresi tingkat tinggi plasmid yang ditransfeksi dan pengemasan virus yang efisien. Konstruk ini diintegrasikan ke dalam sel ginjal embrionik manusia. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain

Data Biomolekuler

Receptors expressed	Vitronectin
Protein expression	CEA negatif, p53 positif
Tumorigenic	Pada tikus telanjang

Penanganan

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (nomor artikel Cytion 820100a)
Supplements	Lengkapi media dengan 10% FBS dan 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 jam

Sel HEK293T | 300189

Subculturing	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.
Seeding density	1×10^4 sel/cm ² akan membentuk lapisan yang padat dalam waktu sekitar 4 hari.
Fluid renewal	2 kali per minggu
Post-Thaw Recovery	Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan 5×10^4 sel/cm ² dan biarkan sel pulih dari proses pembekuan serta menempel setidaknya selama 24 jam.
Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel HEK293T | 300189

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HEK293T | 300189

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.