

HEK293FT-celler | 305275

Generel information

Description

HEK293FT-cellelinjen er et derivat af HEK293-cellelinjen, som oprindeligt stammer fra humane embryonale nyreceller. Betegnelsen "FT" indikerer, at disse celler er blevet transfekteret med SV40 large T-antigen-genet, hvilket forbedrer deres evne til at replikere plasmidvektorer, der indeholder SV40-replikationsoprindelsen. Denne modifikation gør 293FT-celler særligt nyttige til højeffektiv produktion af virale vektorer, såsom lentivirus og adenovirus, og til transfektionsstudier inden for molekylærbiologi og genterapiforskning.

HEK293FT-celler har en epitelmorfologi og vokser hurtigt i kultur, hvilket giver et robust og pålideligt system til produktion af højtiter-virus. De bevarer mange af egenskaberne ved de parentale HEK293-celler, herunder høj transfektionseffektivitet og evnen til at understøtte replikationen af rekombinante vira. Forskere bruger 293FT-celler til at producere virale vektorer til genlevering, til at studere genfunktion og -regulering og til at udvikle genterapier til forskellige sygdomme. Deres rolle i produktionen af virale vektorer gør 293FT-celler til en hjørnesten inden for genterapi, funktionel genomik og molekylær kloning, hvilket fremmer forskning og terapeutisk udvikling.

Organism

Menneske

Tissue

Fosterets nyre

Synonyms

HEK293-FT, HEK-293FT, HEK 293FT, HEK-293-FT, HEK293FT, 293-FT, FT-293

Karakteristika

Age

Foster

Gender

Kvinde

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

HEK293FT (Cytion katalognummer 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_6911

HEK293FT-celler | 305275

GMO Status

GMO-S1: Denne HEK293-afledte cellelinje (293-FT) indeholder et SV40-ekspressionsplasmid med neomycin-selektion, hvilket fremmer øget proliferation og transfektionseffektivitet. Konstruktet giver stabil SV40. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data**Antigen expression**

SV40 stort T-antigen, Adenovirus tidlig region 1A (E1A)

Viruses

Transformant: Adenovirus 5, Simian virus 40 (SV40)

Håndtering**Culture Medium**

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements

Suppler mediet med 10% FBS.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density

2 til 5×10^4 celler/cm²

Fluid renewal

2 gange om ugen

Freeze medium

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

HEK293FT-celler | 305275

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150°C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37°C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78°C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78°C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HEK293FT-celler | 305275

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.