

Cellule HEK293FT | 305275

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HEK293FT è un derivato della linea cellulare HEK293, originariamente derivata da cellule renali embrionali umane. La designazione "FT" indica che queste cellule sono state trasfettate con il gene dell'antigene T grande di SV40, che aumenta la loro capacità di replicare vettori plasmidici contenenti l'origine di replicazione di SV40. Questa modifica rende le cellule 293FT particolarmente utili per la produzione ad alta efficienza di vettori virali, come lentivirus e adenovirus, e per studi di trasfezione in biologia molecolare e terapia genica.

Le cellule HEK293FT presentano una morfologia epiteliale e crescono rapidamente in coltura, fornendo un sistema robusto e affidabile per la produzione di stock virali ad alto titolo. Mantengono molte delle caratteristiche delle cellule HEK293 parentali, tra cui l'elevata efficienza di trasfezione e la capacità di supportare la replicazione di virus ricombinanti. I ricercatori utilizzano le cellule 293FT per produrre vettori virali per il rilascio di geni, per studiare la funzione e la regolazione dei geni e per sviluppare terapie geniche per varie malattie. Il loro ruolo nella produzione di vettori virali rende le cellule 293FT una pietra miliare nei campi della terapia genica, della genomica funzionale e della clonazione molecolare, facilitando il progresso della ricerca e dello sviluppo terapeutico.

Organism Umano**Tissue** Rene fetale**Synonyms** HEK293-FT, HEK-293FT, HEK 293FT, HEK-293-FT, HEK293FT, 293-FT, FT-293

Caratteristiche

Age Feto**Gender** Donna**Morphology** Epiteliale**Growth properties** Aderente

Dati normativi

Citation HEK293FT (catalogo Cytion numero 305275)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

Cellule HEK293FT | 305275

CellosaurusAccession CVCL_6911

GMO Status GMO-S1: Questa linea cellulare derivata da HEK293 (293-FT) contiene un plasmide di espressione dell'SV40 con selezione alla neomicina, che favorisce una maggiore proliferazione e un'elevata efficienza di trasfezione. Il costrutto garantisce l'espressione stabile dell'SV40. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe variare in altri paesi.

Dati biomolecolari

Antigen expression Antigene SV40 grande T, Adenovirus regione iniziale 1A (E1A)

Viruses Trasformante: Adenovirus 5, Simian virus 40 (SV40)

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS.

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Seeding density Da 2 a 5 x 10⁴ cellule/cm²

Fluid renewal 2 volte a settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HEK293FT | 305275

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HEK293FT | 305275

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.