

HEK293FT-celler | 305275

Generell informasjon

Description

HEK293FT-cellelinjen er et derivat av HEK293-cellelinjen, som opprinnelig stammer fra humane embryonale nyreceller. FT-betegnelsen indikerer at disse cellene har blitt transfektert med SV40 large T-antigen-genet, noe som forbedrer deres evne til å replikere plasmidvektorer som inneholder SV40-replikasjonsopprinnelsen. Denne modifikasjonen gjør 293FT-celler spesielt nyttige for høyeffektiv produksjon av virusvektorer, som lentivirus og adenovirus, og for transfeksjonsstudier i molekylærbiologisk forskning og genterapi.

HEK293FT-celler har en epitel morfologi og vokser raskt i kultur, noe som gjør dem til et robust og pålitelig system for produksjon av virusstammer med høy titer. De beholder mange av egenskapene til foreldrecellene HEK293, inkludert høy transfeksjonseffektivitet og evnen til å støtte replikasjon av rekombinante virus. Forskere bruker 293FT-celler til å produsere virusvektorer for genoverføring, til å studere genfunksjon og -regulering og til å utvikle genterapier for ulike sykdommer. 293FT-cellenes rolle i produksjonen av virusvektorer gjør dem til en hjørnestein innen genterapi, funksjonell genomikk og molekylær kloning, noe som bidrar til å fremme forskning og terapeutisk utvikling.

Organism

Menneskelig

Tissue

Fosterets nyre

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

Foster

Gender

Kvinne

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HEK293FT (Cytion katalognummer 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_6911

HEK293FT-celler | 305275

GMO Status

GMO-S1: Denne cellelinjen avledet fra HEK293 (293-FT) inneholder et SV40-ekspresjonsplasmid med neomycin-seleksjon, noe som bidrar til økt proliferasjon og transfeksjonseffektivitet. Konstruert gir stabil SV40. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan avvike 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, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements

Tilsett 10 % FBS i mediet.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Seeding density

2 til 5×10^4 celler/cm²

Fluid renewal

2 ganger per uke

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HEK293FT-celler | 305275

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HEK293FT-celler | 305275

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.