

Κύτταρα HEK293FT | 305275

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά HEK293FT είναι παράγωγο της κυτταρικής σειράς HEK293, που προέρχεται αρχικά από ανθρώπινα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα. Η ονομασία "FT" υποδηλώνει ότι τα κύτταρα αυτά έχουν διαμολυνθεί με το γονίδιο του μεγάλου T-αντιγόνου SV40, το οποίο ενισχύει την ικανότητά τους να αναπαράγουν πλασμιδιακούς φορείς που περιέχουν την προέλευση αντιγραφής SV40. Η τροποποίηση αυτή καθιστά τα κύτταρα 293FT ιδιαίτερα χρήσιμα για την παραγωγή ιικών φορέων υψηλής απόδοσης, όπως οι lentiviruses και οι αδενοϊοί, και για μελέτες διαμόλυνσης στη μοριακή βιολογία και την έρευνα γονιδιακής θεραπείας.

Τα κύτταρα HEK293FT παρουσιάζουν επιθηλιακή μορφολογία και αναπτύσσονται γρήγορα στην καλλιέργεια, παρέχοντας ένα στιβαρό και αξιόπιστο σύστημα για την παραγωγή ιικών αποθεμάτων υψηλού τίτλου. Διατηρούν πολλά από τα χαρακτηριστικά των γονικών κυττάρων HEK293, συμπεριλαμβανομένης της υψηλής αποτελεσματικότητας της διαμόλυνσης και της ικανότητας να υποστηρίζουν την αναπαραγωγή ανασυνδυασμένων ιών. Οι ερευνητές χρησιμοποιούν τα κύτταρα 293FT για την παραγωγή ιικών φορέων για την παράδοση γονιδίων, για τη μελέτη της λειτουργίας και της ρύθμισης των γονιδίων και για την ανάπτυξη γονιδιακών θεραπειών για διάφορες ασθένειες. Ο ρόλος τους στην παραγωγή ιικών φορέων καθιστά τα κύτταρα 293FT ακρογωνιαίο λίθο στους τομείς της γονιδιακής θεραπείας, της λειτουργικής γονιδιωματικής και της μοριακής κλωνοποίησης, διευκολύνοντας την πρόοδο της έρευνας και της θεραπευτικής ανάπτυξης.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Εμβρυϊκός νεφρός

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

Χαρακτηριστικά

Age Έμβρυο

Gender Γυναίκα

Morphology Επιθηλιακό

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation HEK293FT (αριθμός καταλόγου Cytion 305275)

Biosafety level 1

Κύτταρα HEK293FT | 305275

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6911

GMO Status ΓΤΟ-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά που προέρχεται από HEK293 (293-FT) περιέχει ένα πλασμίδιο έκφρασης SV40 T-αντιγόνου με επιλογή νεομικίνης, υποστηρίζοντας τον ενισχυμένο πολλαπλασιασμό και την αποτελεσματικότητα της διαμόλυνσης. Το κατασκεύασμα παρέχει σταθερή έκφραση του μεγάλου αντιγόνου SV40 T. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression SV40 large T antigen, Adenovirus early region 1A (E1A)

Viruses Μετασχηματιστής: 40 (SV40)

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS.

Dissociation Reagent Accutase

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 2 έως 5 x 10⁴ κύτταρα/cm²

Fluid renewal 2 φορές την εβδομάδα

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 HEK293FT | 305275

**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 HEK293FT | 305275

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.