

HEK293FT sejtek | 305275

Általános információk

Description

A HEK293FT sejt vonal az eredetileg emberi embrionális vesesejtekből származó HEK293 sejt vonal származéka. Az "FT" megjelölés azt jelzi, hogy ezeket a sejteket SV40 nagy T-antigén génnel transzfektálták, ami fokozza az SV40 replikációs eredetű tartalmú plazmidvektorok replikációjára való képességüket. Ez a módosítás a 293FT sejteket különösen hasznossá teszi vírusvektorok, például lentivírusok és adenovírusok nagy hatékonyságú előállítására, valamint a molekuláris biológiai és génterápiás kutatások során végzett transzfekciós vizsgálatokra.

A HEK293FT sejtek epiteliális morfológiát mutatnak és gyorsan nőnek a tenyésztetben, így robusztus és megbízható rendszert biztosítanak a magas titerű vírusállományok előállításához. Megtartják a szülői HEK293 sejtek számos jellemzőjét, beleértve a magas transzfekciós hatékonyságot és a rekombináns vírusok szaporodásának támogatását. A kutatók a 293FT sejteket génszállításra szolgáló vírusvektorok előállítására, a génfunkció és -szabályozás tanulmányozására, valamint különböző betegségek génterápiáinak kifejlesztésére használják. A vírusvektorok előállításában betöltött szerepük miatt a 293FT sejtek a génterápia, a funkcionális genomika és a molekuláris klónozás sarokkövei, elősegítve a kutatás és a terápiás fejlesztés előrehaladását.

Organism

Emberi

Tissue

Magzati vese

Synonyms

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

Jellemzők

Age

Magzat

Gender

Női

Morphology

Epithelialis

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

HEK293FT (Cytion katalógusszám: 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HEK293FT sejtek | 305275

CellosaurusAccession CVCL_6911

GMO Status

GMO-S1: Ez a HEK293-ból származó sejtvonal (293-FT) SV40 T-Antigén expressziós plazmidot tartalmaz neomicin szelekcióval, ami támogatja a fokozott proliferációt és transzfekciós hatékonyságot. A konstrukció stabil SV40 nagy T-antigén expressziót biztosít. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression

SV40 nagy T antigén, Adenovírus korai 1A régió (E1A)

Viruses

Transzformáns: Adenovírus 5, Simian virus 40 (SV40)

A kezelése

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density

 $2-5 \times 10^4$ sejt/cm²

Fluid renewal

hetente 2 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HEK293FT sejtek | 305275

Thawing and
Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation
Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing
Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HEK293FT sejtek | 305275

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.