

HEK293FT-cellen | 305275

Algemene informatie

Description

De HEK293FT-celijn is een afgeleide van de HEK293-celijn, die oorspronkelijk afkomstig is van menselijke embryonale niercellen. De aanduiding "FT" geeft aan dat deze cellen zijn getransfecteerd met het SV40-groot T-antigeengen, waardoor ze beter in staat zijn om plasmidevectoren met de SV40-replicatieoorsprong te repliceren. Deze modificatie maakt 293FT cellen bijzonder nuttig voor de productie van virale vectoren met een hoge efficiëntie, zoals lentivirussen en adenovirussen, en voor transfectiestudies in moleculair biologisch en gentherapieonderzoek.

HEK293FT cellen vertonen een epitheliale morfologie en groeien snel in cultuur, waardoor ze een robuust en betrouwbaar systeem vormen voor de productie van virale voorraden met een hoge titer. Ze behouden veel van de eigenschappen van de ouderlijke HEK293 cellen, waaronder een hoge transfectie-efficiëntie en het vermogen om de replicatie van recombinante virussen te ondersteunen. Onderzoekers gebruiken 293FT cellen voor de productie van virale vectoren voor genoverdracht, om genfunctie en -regulatie te bestuderen en om gentherapieën voor verschillende ziekten te ontwikkelen. Hun rol in de productie van virale vectoren maakt 293FT cellen tot een hoeksteen op het gebied van gentherapie, functionele genomica en moleculair klonen, wat de voortgang van onderzoek en therapeutische ontwikkeling vergemakkelijkt.

Organism

Mens

Tissue

Foetale nier

Synonyms

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

Kenmerken

Age

Foetus

Gender

Vrouw

Morphology

Epitheel

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

HEK293FT (Cytion catalogusnummer 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HEK293FT-cellen | 305275

CellosaurusAccession CVCL_6911**GMO Status**

GMO-S1: Deze van HEK293 afgeleide cellijn (293-FT) bevat een SV40 T-antigeenexpressieplasmide met neomycineselectie, wat zorgt voor een betere proliferatie en transfectie-efficiëntie. Het construct zorgt voor stabiele expressie van SV40 groot T-antigeen. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens**Antigen expression**

SV40 groot T-antigeen, Adenovirus vroege regio 1A (E1A)

Viruses

Transformant: Adenovirus 5, Simian virus 40 (SV40)

Omgaan met**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements**

Vul het medium aan met 10% FBS.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Seeding density2 tot 5×10^4 cellen/cm²**Fluid renewal**

2 keer per week

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HEK293FT-cellen | 305275

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HEK293FT-cellen | 305275

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.