

Komórki HEK293FT | 305275

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HEK293FT jest pochodną linii komórkowej HEK293, pierwotnie uzyskanej z ludzkich embrionalnych komórek nerkowych. Oznaczenie "FT" wskazuje, że komórki te zostały transfekowane genem dużego antygeny T SV40, co zwiększa ich zdolność do replikacji wektorów plazmidowych zawierających początek replikacji SV40. Modyfikacja ta sprawia, że komórki 293FT są szczególnie przydatne do wysokowydajnej produkcji wektorów wirusowych, takich jak lentiwirusy i adenowirusy, oraz do badań nad transfekcją w biologii molekularnej i terapii genowej.

Komórki HEK293FT wykazują morfologię nabłonkową i szybko rosną w hodowli, zapewniając solidny i niezawodny system do produkcji wirusów o wysokim mianie. Zachowują one wiele cech macierzystych komórek HEK293, w tym wysoką wydajność transfekcji i zdolność do wspierania replikacji rekombinowanych wirusów. Naukowcy wykorzystują komórki 293FT do produkcji wektorów wirusowych do dostarczania genów, do badania funkcji i regulacji genów oraz do opracowywania terapii genowych dla różnych chorób. Ich rola w produkcji wektorów wirusowych sprawia, że komórki 293FT są kamieniem węgielnym w dziedzinie terapii genowej, genomiki funkcjonalnej i klonowania molekularnego, ułatwiając postęp badań i rozwój terapeutyczny.

Organism

Człowiek

Tissue

Nerka płodu

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

Płód

Gender

Kobieta

Morphology

Nabłonek

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

HEK293FT (numer katalogowy Cytion 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Komórki HEK293FT | 305275

CellosaurusAccession CVCL_6911

GMO Status GMO-S1: Ta linia komórkowa pochodząca z HEK293 (293-FT) zawiera plazmid ekspresji antygenu T SV40 z selekcją neomycyną, wspomagający zwiększoną proliferację i skuteczność transfekcji. Konstrukt zapewnia stabilną ekspresję antygenu SV40 large T. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Antigen expression Antygen SV40 large T, wczesny region 1A adenowirusa (E1A)

Viruses Transformant: Adenowirus 5, Simian virus 40 (SV40)

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzupełnić pożywkę 10% FBS.

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Seeding density 2 do 5 x 10⁴ komórek/cm²

Fluid renewal 2 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HEK293FT | 305275

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HEK293FT | 305275

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.