Product sheet

Клетки HEK293FT | 305275

Обща информация

Description	Клетъчната линия HEK293FT е производна на клетъчната линия HEK293, която първоначално е получена от човешки ембрионални бъбречни клетки. Обозначението "FT" показва, че тези клетки са трансфектирани с гена на големия Т-антиген на SV40, което повишава способността им да реплицират плазмидни вектори, съдържащи произхода на репликация на SV40. Тази модификация прави клетките 293FT особено полезни за високоефективно производство на вирусни вектори, като лентивируси и аденовируси, и за изследвания на трансфекцията в молекулярната биология и генната терапия. Клетките HEK293FT притежават епителна морфология и растат бързо в култура, като осигуряват стабилна и надеждна система за производство на вирусни запаси с висок титър. Те запазват много от характеристиките на родителските клетки HEK293, включително висока ефективност на трансфекция и способност да поддържат репликация на рекомбинантни вируси. Изследователите използват клетки 293FT за производство на вирусни вектори за доставка на гени, за изследване на функцията и регулацията на гените и за разработване на генни терапии за различни заболявания. Ролята им в производството на вирусни вектори превръща клетките 293FT в крайъгълен камък в областта на генната терапия, функционалната геномика и молекулярното клониране, като улеснява напредъка на научните изследвания и терапевтичните разработки.
Organism	Човек
Tissue	Фетален бъбрек
Synonyms	HEK293-FT, HEK-293FT, HEK 293FT, HEK-293-FT, HEK293FT, 293-FT, FT-293

Характеристики

Age	Плод
Gender	Жена
Morphology	Епителиален
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	HEK293FT (каталожен номер 305275 на Cytion)
Biosafety level	1

Клетки HEK293FT | 305275

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6911
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия, получена от HEK293 (293-FT), съдържа SV40 T-антиген експресивен плазмид с неомицинова селекция, който поддържа повишена пролиферация и ефективност на трансфекцията. Конструкцията осигурява стабилна експресия на голям T антиген на SV40. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Antigen expression	Голям T антиген на SV40, ранна област 1A на аденовируса (E1A)
Viruses	Трансформатор: Аденовирус 5, Симиански вирус 40 (SV40)

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	2 до 5 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HEK293FT | 305275

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEK293FT | 305275

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.