

HEK293FT rakud | 305275

Üldine teave

Description

HEK293FT rakuliin on algselt inimese embrüonaalsetest neerurakkudest saadud HEK293 rakuliini derivaat. Nimetus "FT" näitab, et need rakud on transfekteeritud SV40 suure T-antigeeni geeniga, mis suurendab nende võimet paljundada SV40 replikatsiooni algupära sisaldavaid plasmidvektoreid. See modifikatsioon muudab 293FT rakud eriti kasulikuks viirusvektorite, näiteks lentiviiruste ja adenoviiruste suure tõhususega tootmiseks ning molekulaarbioloogiliste ja geeniteraapia uuringute transfektsiooniuuringuteks.

HEK293FT rakkudel on epiteeli morfoloogia ja nad kasvavad kultuuris kiiresti, mis annab tugeva ja usaldusväärse süsteemi kõrge tiitrisusega viiruste varude tootmiseks. Nad säilitavad paljud vanemrakkude HEK293 omadused, sealhulgas suure transfektsiooni tõhususe ja võime toetada rekombinantsete viiruste replikatsiooni. Teadlased kasutavad 293FT rakke viirusvektorite tootmiseks geenide edastamiseks, geenifunktsiooni ja -regulatsiooni uurimiseks ning erinevate haiguste geeniteraapia väljatöötamiseks. Nende roll viirusvektorite tootmisel muudab 293FT rakud geeniteraapia, funktsionaalse genoomika ja molekulaarse kloonimise nurgakiviks, mis hõlbustab teadusuuringute ja terapeutilise arengu edendamist.

Organism

Inimene

Tissue

Loote neerud

Synonyms

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

Omadused

Age

Loote

Gender

Naised

Morphology

Epiteel

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

HEK293FT (Cytioni katalooginumber 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_6911

HEK293FT rakud | 305275

GMO Status

GMO-S1: See HEK293-st saadud rakuliin (293-FT) sisaldab SV40 T-antigeeni ekspressiooniplasmiidi koos neomütsiini selektsiooniga, mis toetab tõhustatud proliferatsiooni ja transfektsiooni tõhusust. Konstruktsioon tagab stabiilse SV40 suure T-antigeeni ekspressiooni. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed**Antigen expression**

SV40 suur T antigeen, Adenoviiruse varajane piirkond 1A (E1A)

Viruses

Transformant: Adenoviirus 5, Simian virus 40 (SV40)

Töötlemine**Culture Medium**

DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements

Lisage söötmesse 10% FBS.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötmega ja peske need PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et need resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvides, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density

2 kuni 5×10^4 rak_{ku}/cm²

Fluid renewal

2 korda nädalas

Freeze medium

Krüsäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HEK293FT rakud | 305275

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HEK293FT rakud | 305275

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.