

HEK293FT ląstelės | 305275

Bendra informacija

Description

HEK293FT ląstelių linija yra HEK293 ląstelių linijos, iš pradžių gautos iš žmogaus embrioninių inkstų ląstelių, darinys. "FT" žyma rodo, kad šios ląstelės buvo transfekuotos SV40 didelio T-antigeno genu, kuris padidina jų gebėjimą replikuoti plazmidinius vektorius, turinčius SV40 replikacijos pradžią. Dėl šios modifikacijos 293FT ląstelės ypač naudingos didelio efektyvumo virusinių vektorių, tokių kaip lentivirusai ir adenovirusai, gamybai ir transfekcijos tyrimams molekulinės biologijos ir genų terapijos srityje.

HEK293FT ląstelės pasižymi epitelio morfologija ir sparčiai auga kultūroje, todėl yra tvirta ir patikima sistema didelio titrų skaičiaus virusų atsargoms gaminti. Jos išlaiko daugelį tėvinių HEK293 ląstelių savybių, įskaitant didelį transfekcijos efektyvumą ir gebėjimą palaikyti rekombinantinių virusų replikaciją. Mokslininkai naudoja 293FT ląsteles virusiniams vektoriams, skirtiems genų perdavimui, gaminti, genų funkcijai ir reguliavimui tirti bei įvairių ligų genų terapijai kurti. Dėl jų vaidmens gaminant virusų vektorius 293FT ląstelės yra kertinis akmuo genų terapijos, funkcinės genomikos ir molekulinio klonavimo srityse, palengvinantis mokslinių tyrimų ir terapijos plėtrą.

Organism

Žmogus

Tissue

Vaisiaus inkstai

Synonyms

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

Charakteristikos

Age

Vaisius

Gender

Moteris

Morphology

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

HEK293FT (Cytion katalogo numeris 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_6911

HEK293FT ląstelės | 305275

GMO Status

GMO-S1: šioje HEK293 ląstelių linijoje (293-FT) yra SV40 T-antigeno raiškos plazmidė su neomicino selekcija, užtikrinanti didesnę proliferacijos ir transfekcijos efektyvumą. Konstruktas užtikrina stabilų SV40 didžiojo T antigeno raišką. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression

SV40 didysis T antigenas, Adenoviruso ankstyvoji 1A sritis (E1A)

Viruses

Transformantas: Adenovirusas 5, Simiano virusas 40 (SV40)

Tvarkymas

Culture Medium

DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements

Papildykite terpę 10 % FBS.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density

$2-5 \times 10^4$ ląstelės/cm²

Fluid renewal

2 kartus per savaitę

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HEK293FT ląstelės | 305275

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HEK293FT ląstelės | 305275

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.