

HEK293FT šūnas | 305275

Vispārīga informācija

Description	HEK293FT šūnu līnija ir HEK293 šūnu līnijas atvasinājums, kas sākotnēji iegūta no cilvēka embrionālajām nieru šūnām. Apzīmējums "FT" norāda, ka šīs šūnas ir transficētas ar SV40 lielā T-antigēna gēnu, kas uzlabo to spēju replicēt plazmīdu vektorus, kuri satur SV40 replikācijas sākumu. Šī modifikācija padara 293FT šūnas īpaši noderīgas vīrusu vektoru, piemēram, lentivīrusu un adenovīrusu, augstas efektivitātes ražošanai un transfekcijas pētījumiem molekulārās bioloģijas un gēnu terapijas jomā. HEK293FT šūnām piemīt epitēlija morfoloģija, un tās ātri aug kultūrā, nodrošinot stabilu un uzticamu sistēmu augstas titrēšanas pakāpes vīrusu krājumu ražošanai. Tās saglabā daudzas vecāku HEK293 šūnu īpašības, tostarp augstu transfekcijas efektivitāti un spēju atbalstīt rekombinantu vīrusu replikāciju. Pētnieki izmanto 293FT šūnas, lai ražotu vīrusu vektorus gēnu piegādei, pētītu gēnu funkciju un regulāciju un izstrādātu gēnu terapiju dažādām slimībām. 293FT šūnu loma vīrusu vektoru ražošanā padara 293FT šūnas par stūrakmeni gēnu terapijas, funkcionālās genomikas un molekulārās klonēšanas jomās, veicinot pētniecības un terapijas izstrādes progresu.
Organism	Cilvēks
Tissue	Augļa nieres
Synonyms	HEK293-FT, HEK-293FT, HEK 293FT, HEK-293FT, HEK293FT, 293-FT, FT-293

Raksturojums

Age	Auglis
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlija
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	HEK293FT (Cytion kataloga numurs 305275)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6911

HEK293FT šūnas | 305275

GMO Status

GMO-S1: Šī HEK293 atvasināto šūnu līnija (293-FT) satur SV40 T-antagēna ekspresijas plazmīdu ar neomicīna selekciju, kas nodrošina lielāku proliferāciju un transfekcijas efektivitāti. Konstrukts nodrošina stabilu SV40 lielā T antigēna ekspresiju. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati**Antigen expression**

SV40 lielais T antigēns, adenovīrusa agrīnā 1A apgabala (E1A)

Viruses

Transformants: Adenovīruss 5, Sīmiāna vīruss 40 (SV40)

Darbs ar**Culture Medium**

DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements

Papildiniet barotni ar 10% FBS.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density

2 līdz 5×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal

2 reizes nedēļā

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HEK293FT šūnas | 305275

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HEK293FT šūnas | 305275

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.