

Bunky HEK293FT | 305275**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HEK293FT je derivátom bunkovej línie HEK293, pôvodne odvodenej z ľudských embryonálnych obličkových buniek. Označenie "FT" znamená, že tieto bunky boli transfekované génom pre veľký T-antigén SV40, čo zvyšuje ich schopnosť replikovať plazmidové vektory obsahujúce pôvod replikácie SV40. Vďaka tejto modifikácii sú bunky 293FT obzvlášť užitočné na vysokoúčinnú produkciu vírusových vektorov, ako sú lentivírusy a adenovírusy, a na transfekčné štúdie v molekulárnej biológii a výskume génovej terapie.

Bunky HEK293FT vykazujú epitelovú morfológiu a rýchlo rastú v kultúre, čím poskytujú robustný a spoľahlivý systém na produkciu vírusových zásob s vysokým titrom. Zachovávajú si mnohé vlastnosti rodičovských buniek HEK293 vrátane vysokej účinnosti transfekcie a schopnosti podporovať replikáciu rekombinantných vírusov. Výskumníci využívajú bunky 293FT na výrobu vírusových vektorov na dodávanie génov, na štúdium funkcie a regulácie génov a na vývoj génových terapií rôznych ochorení. Vďaka ich úlohe pri produkcii vírusových vektorov sú bunky 293FT základným kameňom v oblasti génovej terapie, funkčnej genomiky a molekulárneho klonovania, čo uľahčuje pokrok vo výskume a vývoji terapií.

Organism

Ľudské

Tissue

Fetálne obličky

Synonyms

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

Charakteristika**Age**

Plod

Gender

Ženy

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje**Citation**

HEK293FT (katalógové číslo Cytion 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_6911

Bunky HEK293FT | 305275**GMO Status**

GMO-S1: Táto bunková línia odvodená od HEK293 (293-FT) obsahuje expresný plazmid SV40 T-Antigen s neomycínovou selekciou, ktorý podporuje zvýšenú proliferáciu a účinnosť transfekcie. Konštrukt poskytuje stabilnú expresiu veľkého antigénu SV40 T. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje**Antigen expression**

Veľký T antigén SV40, skorá oblasť 1A adenovírusu (E1A)

Viruses

Transformant: Adenovírus 5, Simian virus 40 (SV40)

Spracovanie**Culture Medium**

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements

Médium doplňte 10 % FBS.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density

2 až 5 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal

2 krát týždenne

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky HEK293FT | 305275

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HEK293FT | 305275

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.