

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 плазмид за експресия на SV40 със селекция чрез неомицин, което спомага за повишена пролиферация и ефективност на трансфекцията. Конструктът осигурява стабилен SV40. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други държави.

Биомолекуларни данни

Antigen expression Голям Т 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 ресуспендирайте, 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 10⁴ клетки/cm²

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.