Product sheet

Buňky HEK293FT | 305275

Obecné informace

Description	Buněčná linie HEK293FT je derivátem buněčné linie HEK293, původně odvozené z buněk lidských embryonálních ledvin. Označení "FT" znamená, že tyto buňky byly transfekovány genem pro velký T-antigen SV40, což zvyšuje jejich schopnost replikovat plazmidové vektory obsahující replikační původ SV40. Díky této modifikaci jsou buňky 293FT zvláště užitečné pro vysoce účinnou produkci virových vektorů, jako jsou lentiviry a adenoviry, a pro transfekční studie v molekulární biologii a výzkumu genové terapie. Buňky HEK293FT vykazují epiteliální morfologii a rychle rostou v kultuře, čímž poskytují robustní a spolehlivý systém pro produkci virových zásob ve vysokém titru. Zachovávají si mnoho vlastností rodičovských buněk HEK293, včetně vysoké účinnosti transfekce a schopnosti podporovat replikaci rekombinantních virů. Výzkumníci využívají buňky 293FT k výrobě virových vektorů pro přenos genů, ke studiu funkce a regulace genů a k vývoji genových terapií různých onemocnění. Díky své roli při výrobě virových vektorů jsou buňky 293FT základním kamenem v oblasti genové terapie, funkční genomiky a molekulárního klonování, což usnadňuje pokrok ve výzkumu a vývoji léčebných postupů.
Organism	Člověk
Tissue	Fetální ledvina
Synonyms	HEK293-FT, HEK-293FT, HEK 293FT, HEK-293-FT, HEK293FT, 293-FT, FT-293

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Ženy
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	HEK293FT (katalogové číslo Cytion 305275)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6911

Buňky HEK293FT | 305275

GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie odvozená od HEK293 (293-FT) obsahuje expresní plazmid SV40 s neomycinovou selekcí, který podporuje zvýšenou proliferaci a účinnost transfekce. Konstrukt zajišťuje stabilní expresi SV40. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Antigen expression	Velký T antigen SV40, raná oblast 1A (E1A) adenoviru
Viruses	Transformant: Adenovirus 5, Simian virus 40 (SV40)

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium 10% FBS.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Seeding density	2 až 5 x 10^{4} buněk/cm^{2}
Fluid renewal	2krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HEK293FT | 305275

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.