

HEK293FT-solut | 305275

Yleisiä tietoja

Description

HEK293FT-solulinja on alun perin ihmisen alkion munuaissoluista peräisin olevan HEK293-solulinjan johdannainen. FT-merkintä osoittaa, että näihin soluihin on transfektoitu SV40 large T-antigeenigeeni, joka parantaa niiden kykyä replikoida SV40-alkuperää sisältäviä plasmidivektoreita. Tämä muutos tekee 293FT-soluista erityisen käyttökelpoisia virusvektoreiden, kuten lentivirusten ja adenovirusten, tehokkaaseen tuotantoon sekä molekyylibiologian ja geeniterapian tutkimukseen liittyviin transfektiotutkimuksiin.

HEK293FT-soluilla on epiteelimorfologia, ja ne kasvavat nopeasti viljelyssä, mikä tarjoaa vankan ja luotettavan järjestelmän korkeatiteristen viruskantojen tuottamiseen. Ne säilyttävät monet vanhempien HEK293-solujen ominaisuuksista, kuten korkean transfektiotehokkuuden ja kyvyn tukea rekombinanttien virusten replikaatiota. Tutkijat käyttävät 293FT-soluja virusvektoreiden tuottamiseen geenien levittämistä varten, geenien toiminnan ja säätelyn tutkimiseen ja geeniterapioiden kehittämiseen eri sairauksiin. Niiden rooli virusvektoreiden tuotannossa tekee 293FT-soluista geeniterapian, funktionaalisen genomiikan ja molekyylikloonauksen kulmakiven, joka helpottaa tutkimuksen ja terapeuttisen kehityksen edistämistä.

Organism

Ihminen

Tissue

Sikiön munuaiset

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

Sikiö

Gender

Nainen

Morphology

Epiteeli

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

HEK293FT (Cytionin luettelonumero 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_6911

HEK293FT-solut | 305275**GMO Status**

GMO-S1: Tämä HEK293-solulinjasta johdettu solulinja (293-FT) sisältää SV40-ilmentymisplasmidin, jossa on neomysiinivalinta, mikä edistää solujen lisääntymistä ja parantaa transfektiotehokkuutta. Rakenteessa ilmentyy stabiilia SV40-proteiinia. Tämä luokitus koskee ainoastaan Saksaa, ja se voi poiketa muissa maissa.

Biomolekyylitiedot**Antigen expression**

SV40:n suuri T-antigeeni, Adenoviruksen varhainen alue 1A (E1A)

Viruses

Muuntaja: Adenovirus 5, Simian virus 40 (SV40)

Käsittely**Culture Medium**

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements

Täydennä elatusainetta 10 %:lla FBS:llä.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density

$2-5 \times 10^4$ solua/cm²

Fluid renewal

2 kertaa viikossa

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HEK293FT-solut | 305275

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEK293FT-solut | 305275

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.