

Клеточная линия НЕК293Т

Кат. # CL002S

Версия 1 от 17 октября 2022 г.

Клетки НЕК293Т выделены из эмбриональных клеток почки человека.

Клетки содержат Т-антиген SV40 и способны реплицировать векторы, несущие область репликации SV40.

Линия НЕК293Т широко применяется для трансфекции, экспрессии рекомбинантных белков и получения высоких титров ретровирусов.

Состав

Состав	Кат. #	Количество
Клеточная линия НЕК293Т	CL002S	1 криопробирка*

* Количество клеток в 1 криопробирке эквивалентно монослою, собранному с культурального флакона площадью 25 см².

Транспортировка: в сухом льду или жидком азоте при температуре не выше –70 °С. После получения незамедлительно извлечь замороженные клетки из транспортной упаковки и поместить их в пары жидкого азота (не выше –130 °С).

Хранение: в парах или жидкой фазе азота при температуре не выше –130 °С.

Срок годности: 24 месяца с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Основные свойства

Организм: человек.

Тип клеток: эпителиальные.

Ткань: почка.

Возраст: плод.

Пол: женский.

Тип роста культуры: адгезивная.

Заболевание: нет.

Результаты типирования линии по локусам коротких tandemных повторов (STR):

Локус	Аллель
Амелогенин	X
CSF1PO	11, 12, 13
D13S317	12, 14
D16S539	9, 13
D5S818	8, 9
D7S820	10, 11
TH01	7, 9.3
TPOX	11, 12
vWA	16, 18, 19

Результат теста на наличие ДНК микоплазмы: отрицательный.

Результат получен с помощью набора Мусо Real-Time (Кат. # MR004, Евроген).

Условия культивирования: питательная среда DMEM (Dulbecco's modified Minimum Essential Medium) с 10% эмбриональной телячьей сывороткой.

Условия пассирования: раствор 0.25% Трипсина с 0.53 мМ ЭДТА.

Реагенты для криоконсервации: эмбриональная телячья сыворотка с добавлением 20% DMSO.

1. Рекомендации по работе с клетками

Полная ростовая среда: питательная среда DMEM с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки в объеме 10%.

► Во время восстановления клеток после разморозки важно соблюдать pH полной ростовой среды: от 7.0 до 7.6. Для этого заранее подготовьте необходимый объем полной ростовой среды и поместите ее в инкубатор не менее чем на 15 минут.

Условия культивирования:

- Пассивное увлажнение воздуха в инкубаторе, ежедневный контроль уровня воды (используйте стерилизованную, автоклавированную воду), ежемесячная деcontаминация инкубатора.
- Температура культивирования: + 37 °C.
- Атмосфера: 95% воздух, 5% CO₂.

2. Вывод клеток из криоконсервации

- ▶ Для достижения наивысшего уровня жизнеспособности рекомендуется разморозить криопробирку с клетками и посеять их сразу после получения.
- 2.1. Разморозьте криопробирку, осторожно встряхивая ее на водяной бане при температуре 37 °С, в течение примерно 2 минут.
- ▶ Чтобы снизить вероятность загрязнения, держите уплотнительное кольцо и колпачок вдали от воды.
- 2.2. Удалите криопробирку из водяной бани, как только содержимое оттает, и проведите обеззараживание, погрузив или опрыскав ее 70% этиловым спиртом.
- ▶ Важно: далее все операции должны проводиться в строгих асептических условиях.
- 2.3. Перенесите содержимое криопробирки в центрифужную пробирку объемом 15 мл, содержащую 5 мл полной ростовой среды, и центрифугируйте при 125 g в течение 5 минут.
- 2.4. Аккуратно отберите и утилизируйте надосадочную жидкость.
- 2.5. Ресуспендируйте клеточный осадок с необходимым количеством полной ростовой среды (прогретой в инкубаторе, pH 7.0–7.6) и разлейте в культуральные флаконы.
- ▶ Для флаконов площадью 25 см² рекомендуется использовать 5 мл полной ростовой среды; для флаконов площадью 75 см² – 15 мл.
- 2.6. Поместите флакон с клетками в инкубатор для культивирования.

3. Пассирование

- 3.1. Удалите полную ростовую среду из культурального флакона с монослоем клеток.
- 3.2. Быстро промойте клеточный слой раствором 0.25% Трипсина с 0.53 мМ ЭДТА для удаления сыворотки.
- 3.3. Добавьте 2–3 мл раствора 0.25% Трипсина с 0.53 мМ ЭДТА во флакон и наблюдайте за клетками под инвертированным микроскопом до тех пор, пока клеточный слой не рассеется (в течение 5–15 минут).
Во избежание агрегации не взбалтывайте клетки, ударяя или встряхивая флакон.
Для облегчения диспергирования клеток, которые трудно отделяются от поверхности при комнатной температуре, флакон можно поместить в инкубатор при 37 °С.
- 3.4. Добавьте 4–6 мл полной ростовой среды в флакон и аспирируйте клетки, осторожно пипетируя.

3.5. Проведите подсчет клеток и перенесите соответствующее количество суспензии в новый флакон для культивирования. Добавьте во флакон необходимое количество полной ростовой среды.

► *Рекомендуемые условия пассирования: 2–3 раза в неделю, соотношение от 1:2 до 1:8 в зависимости от скорости роста клеток и типа культуры.*

3.6. Поместите флакон с клетками в инкубатор для культивирования.

4. Криоконсервация

► *Рекомендованное количество клеток для криоконсервации: монослой с культурального флакона площадью 25 см².*

4.1. Удалите полную ростовую среду из культурального флакона с монослоем клеток.

4.2. Быстро промойте клеточный слой раствором 0.25% Трипсина с 0.53 мМ ЭДТА для удаления сыворотки.

4.3. Добавьте 2–3 мл раствора 0.25% Трипсина с 0.53 мМ ЭДТА во флакон и наблюдайте за клетками под инвертированным микроскопом до тех пор, пока клеточный слой не рассеется (в течение 5–15 минут).

Во избежание агрегации не взбалтывайте клетки, ударяя или встряхивая флакон.

Для облегчения диспергирования клеток, которые трудно отделяются от поверхности при комнатной температуре, можно поместить флакон в инкубатор при 37 °C.

4.4. Перенесите суспензию клеток в центрифужную пробирку объемом 15 мл, добавьте пропорциональный объем полной ростовой среды для ингибирования трипсина, центрифугируйте суспензию при 125 g в течение 5 минут.

4.5. Отберите надосадочную жидкость, оставив 0.5 мл жидкости над осадком.

4.6. Аккуратно встряхните пробирку, чтобы перемешать клеточный осадок с надосадочной жидкостью.

4.7. Перенесите клеточную суспензию в криопробирку и добавьте 0.5 мл раствора для криоконсервации, не ресуспендируя клетки.

► *Раствор для криоконсервации: эмбриональная телячья сыворотка с добавлением 20% DMSO.*

Допускается использование растворов с другими составами. В таких случаях условия восстановления клеток после криоконсервации могут быть изменены.

4.8. Перенесите криопробирки на –70 °C, затем, через сутки, в зависимости от предполагаемой длительности хранения, переместите их в пары или жидкую фазу азота.

ЗАО Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15

Тел.: +7 (495) 784-7084

order@evrogen.ru

www.evrogen.ru