

Buňky Lenti-X293T | 305820**Obecné informace****Description**

Buňky Lenti-X293T jsou derivátem lidské embryonální ledviny 293T, které byly speciálně upraveny a optimalizovány pro vysoce účinnou produkci lentivirových vektorů. Stejně jako mateřské buňky 293T stabilně exprimují velký T antigen SV40, který umožňuje epizomální replikaci plazmidů obsahujících replikační původ SV40 a významně zvyšuje účinnost přechodné transfekce. Buňky Lenti-X293T vykazují adhezivní epiteliální morfologii a robustní růstové charakteristiky ve standardních kultivačních podmínkách doplněných sérem, což podporuje kultivace s vysokou hustotou vhodné pro velkokapacitní pracovní postupy virové produkce.

Tato buněčná linie byla vybrána pro vynikající transfekční výkonnost při použití činidel na bázi fosforečnanu vápenatého, lipidů nebo polymerů, což vede k trvale zvýšeným titrům lentiviru ve srovnání s konvenčními populacemi HEK293T. Zvýšený virový výstup je přičítán optimalizované buněčné fyziologii, která podporuje účinný příjem plazmidu, silnou expresi transgenu a efektivní sestavení a uvolnění replikačně nekompetentních lentivirových částic při společné transfekci s vhodnými balicími a obalovými konstrukty. Buňky Lenti-X293T jsou proto široce používány pro generování lentivirových vektorů třetí generace v aplikacích pro dodávání genů, úpravu genů a inženýrství stabilních buněčných linií.

Buňky Lenti-X293T si zachovávají obecnou užitečnost systémů odvozených od HEK293 pro studium exprese rekombinantních proteinů na vysoké úrovni a přechodné genové exprese. Díky svým stabilním růstovým charakteristikám a reprodukovatelnému výkonu jsou vhodné jak pro výzkumné aplikace v malém měřítku, tak pro škálovatelné výrobní prostředí, za předpokladu, že jsou dodržovány standardní pokyny pro biologickou bezpečnost a balení vektorů pro lentivirální systémy.

Organism

Člověk

Tissue

Embryonální ledvina

Disease

Transformovaná buněčná linie (HEK buňky transformované DNA adenoviru typu 5)

Applications

Produkce lentivirového vektoru; přechodná transfekce; vysoká úroveň exprese rekombinantního proteinu; balení viru

Synonyms

Lenti-X 293T; 293T; HEK 293T

Charakteristika**Age**

Plod

Gender

Žena

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Embryonální epiteliální buňky ledvin

Buňky Lenti-X293T | 305820

Growth properties

Adherentní; vysoká transfekovatelnost; silná exprese virových proteinů

Regulační údaje**Citation**

Lenti-X293T (katalogové číslo Cytion 305820)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0063 (rodičovský 293T)

GMO Status

Stav GMO Geneticky modifikovaný (transformace DNA adenoviru typu 5; exprese velkého T antigenu SV40)

Biomolekulární data**Protein expression**

SV40 velký T antigen

Antigen expression

SV40 velký T antigen

Oncogenes

SV40 velký T antigen

Tumorigenic

tumorigenní u imunokompromitovaných myší (pro 293T)

Viruses

Obsahuje DNA adenoviru typu 5; exprimuje velký T antigen SV40.

Virus susceptibility

Vysoce tolerantní pro produkci lentivirových vektorů

Ploidy status

Aneuploidní, hypotriploidní (hlášeno pro 293T)

Mutational profile

Není plně charakterizován; obsahuje integrovanou DNA adenoviru 5 a konstrukt velkého T antigenu SV40.

Karyotype

Aneuploidní lidský karyotyp s vícečetnými chromozomálními abnormalitami (typický pro 293T)

Zpracování

Buňky Lenti-X293T | 305820

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

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	20–24 hodin
----------------------	-------------

Subculturing	Rozdělte před dosažením úplného spojení; po rozmrazení počkejte až 48 hodin, než dojde k úplnému připojení.
---------------------	---

Split ratio	Doporučuje se poměr 1:5 až 1:10.
--------------------	----------------------------------

Seeding density	2 až 4 x 10 ⁴ buněk/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	Každé 2–3 dny
----------------------	---------------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.
----------------------	--

Buňky Lenti-X293T | 305820**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 buď okamžitě uložte kryovialku 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 odstřeďte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % _{CO2} , zvlhčená atmosféra.
----------------------------------	---

Flask Coating	Žádný
----------------------	-------

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