

Lenti-X293T ląstelės | 305820

Bendra informacija

Description

Lenti-X293T ląstelės yra žmogaus embrioninių inkstų 293T linijos darinys, sukurtas ir optimizuotas specialiai didelio efektyvumo lentivirusinių vektorių gamybai. Kaip ir tėvinės 293T ląstelės, jos stabiliai ekspresuoja SV40 didelį T antigeną, kuris leidžia epizominę replikaciją plazmidų, turinčių SV40 replikacijos kilmę, ir žymiai padidina laikinos transfekcijos efektyvumą. Lenti-X293T ląstelės pasižymi adhezyvine epiteline morfologija ir stipriais augimo požymiais standartinėse kultūrinėse sąlygose su serumo priedais, todėl tinka didelio tankio kultūroms, kurios yra tinkamos didelio masto virusų gamybos procesams.

Ši ląstelių linija buvo atrinkta dėl puikios transfekcijos efektyvumo naudojant kalcio fosfato, lipidų arba polimerų pagrindu pagamintus reagentus, dėl to lentinio viruso titrai yra nuolat aukštesni, palyginti su įprastinėmis HEK293T populiacijomis. Padidėjęs virusų kiekis yra susijęs su optimizuota ląstelių fiziologija, kuri palaiko efektyvų plazmidų įsisavinimą, stiprią transgenų ekspresiją ir efektyvą replikacijai netinkamų lentivirusinių dalelių surinkimą ir išlaisvinimą, kai jos yra transfekuojamos kartu su atitinkamais pakavimo ir apvalkalo konstruktais. Todėl Lenti-X293T ląstelės yra plačiai naudojamos trečiosios kartos lentivirusinių vektorių generavimui genų perdavimo, genų redagavimo ir stabilų ląstelių linijų inžinerijos taikymuose.

Lenti-X293T ląstelės išlaiko bendrą HEK293 kilmės sistemų naudingumą aukšto lygio rekombinantinių baltymų ekspresijai ir laikiniams genų ekspresijos tyrimams. Dėl savo stabilų augimo charakteristikų ir atkuriamų savybių jos tinka tiek mažos apimtys moksliniams tyrimams, tiek masto gamybai, su sąlyga, kad laikomasi standartinių biologinio saugumo ir vektorių pakavimo gairių, taikomų lentivirusinėms sistemoms.

Organism

Žmogus

Tissue

Embrioninis inkstas

Disease

Transformuota ląstelių linija (adenoviruso 5 tipo DNR transformuotos HEK ląstelės)

Applications

Lentivirusinio vektoriaus gamyba; laikina transfekcija; aukšto lygio rekombinantinio baltymo ekspresija; viruso pakavimas

Synonyms

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

Charakteristikos

Age

Vaisius

Gender

Moteris

Morphology

Į epitelį panašus

Cell type

Embrioninės inkstų epitelio ląstelės

Lenti-X293T ląstelės | 305820

Growth properties

Adherentinis; didelis transfekcijos laipsnis; stipri virusinė baltymų ekspresija

Reguliavimo duomenys**Citation**

Lenti-X293T (Cytion katalogo numeris 305820)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0063 (tėvų 293T)

GMO Status

GMO statusas Genetiškai modifikuotas (adenoviruso 5 tipo DNR transformacija; SV40 didelio T antigeno ekspresija)

Biomolekuliniai duomenys**Protein expression**

SV40 didelis T antigenas

Antigen expression

SV40 didelis T antigenas

Oncogenes

SV40 didelis T antigenas

Tumorigenic

tumorigeninis imuninės sistemos sutrikimų turinčiose pelėse (293T atveju)

Viruses

Sudėtyje yra adenoviruso 5 tipo DNR; išreiškia SV40 didelį T antigeną.

Virus susceptibility

Labai palankus lentivirusų gamybai

Ploidy status

Aneuploidinis, hipotriploidinis (pranešta apie 293T)

Mutational profile

Ne visiškai apibūdintas; sudėtyje yra integruotas adenoviruso 5 DNR ir SV40 didžiojo T antigeno konstruktas.

Karyotype

Aneuploidinis žmogaus kariotipas su daugybe chromosomų anomalijų (būdingas 293T)

Tvarkymas

Lenti-X293T ląstelės | 305820

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20–24 valandos

Subculturing Padalinkite prieš pasiekiant visišką susiliejamą; po atšildymo palaukite iki 48 valandų, kol visiškai prisijungs.

Split ratio Rekomenduojamas santykis yra nuo 1:5 iki 1:10.

Seeding density 2–4 x 10⁴ ląstelės/cm²

Fluid renewal Kas 2–3 dienas

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Lenti-X293T ląstelės | 305820

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 %_{CO2}, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė