Product sheet

Lenti-X293T ląstelės | 305820

Bendra informacija

Description	Lenti-X293T ląstelės yra žmogaus embrioninių inkstų 293T linijos darinys, sukurtas ir optimizuotas specialiai aukšto 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 lėtivirusų titrai yra nuolat aukštesni, palyginti su įprastinėmis HEK293T populiacijomis. Padidėjęs virusų kiekis yra priskiriamas optimizuotai ląstelių fiziologijai, kuri palaiko efektyvų plazmidų įsisavinimą, stiprią transgeno ekspresiją ir efektyvų 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 stabilių ląstelių linijų inžinerijos taikymuose. Lenti-X293T ląstelės išlaiko bendrą HEK293 kilmės sistemų naudingumą aukšto lygio rekombinantinių baltymų ekspresijai ir laikiniems genų ekspresijos tyrimams. Dėl stabilių augimo charakteristikų ir atkartojamų rezultatų jos tinka tiek mažos apimties 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 susiliejimą; 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 10^4 ląstelės/cm^2
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 švariu 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.
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 perkelkite 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 perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA