

Lenti-X293T šūnas | 305820

Vispārīga informācija

Description

Lenti-X293T šūnas ir cilvēka embrija nieru 293T cilts atvasinājums, kas ir īpaši izstrādāts un optimizēts augstas efektivitātes lentivīrusu vektoru ražošanai. Tāpat kā vecāku 293T šūnas, tās stabili ekspresē SV40 lielā T antigēnu, kas ļauj episomāli replicēt plazmīdas, kas satur SV40 replikācijas izcelsmi, un ievērojami uzlabo pārejošas transfekcijas efektivitāti. Lenti-X293T šūnas uzrāda adhezīvu epitēlija morfoloģiju un stabilas augšanas īpašības standarta seruma papildinātos kultivēšanas apstākļos, atbalstot augstas blīvuma kultūras, kas piemērotas liela mēroga vīrusu ražošanas darba plūsmām.

Šī šūnu līnija ir izvēlēta tās izcilajai transfekcijas veikspējai, izmantojot kalcija fosfāta, lipīdu vai polimēru bāzes reaģentus, kā rezultātā tiek iegūti pastāvīgi paaugstināti lentivīrusu titri salīdzinājumā ar parastajām HEK293T populācijām. Uzlabotā vīrusu produkcija ir saistīta ar optimizētu šūnu fizioloģiju, kas nodrošina efektīvu plazmīdu uzsūkšanos, spēcīgu transgēnu ekspresiju un efektīvu replikācijas nespējīgu lentivīrusu daļiņu salikšanu un atbrīvošanu, ja tās tiek kopīgi transfekcijas ar atbilstošām iepakojuma un apvalka konstrukcijām. Tāpēc Lenti-X293T šūnas plaši izmanto trešās paaudzes lentivīrusu vektoru radīšanai gēnu piegādē, gēnu rediģēšanā un stabilu šūnu līniju inženierijas lietojumos.

Lenti-X293T šūnas saglabā HEK293 atvasināto sistēmu vispārējo lietderību augsta līmeņa rekombinantās proteīna ekspresijas un pārejošas gēnu ekspresijas pētījumos. To stabilās augšanas īpašības un reproducējama veikspēja padara tās piemērotas gan mazā mēroga pētniecības lietojumiem, gan mērogojamām ražošanas vidēm, ja tiek ievērotas standarta bioloģiskās drošības un vektoru iepakojšanas vadlīnijas lentivīrusu sistēmām.

Organism

Cilvēks

Tissue

Embrionālā niere

Disease

Transformēta šūnu līnija (adenovīrusa 5. tipa DNS transformētas HEK šūnas)

Applications

Lentivīrusu vektoru ražošana; pārejoša transfekcija; augsta līmeņa rekombinantās proteīna ekspresija; vīrusu iepakojšana

Synonyms

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

Raksturojums

Age

Auglis

Gender

Sieviete

Morphology

Epitēlijveidīgs

Cell type

Embrionālo nieru epitēlija šūnas

Lenti-X293T šūnas | 305820

Growth properties

Adherent; augsta transfekcijas spēja; spēcīga vīrusu proteīnu ekspresija

Normatīvie dati**Citation**

Lenti-X293T (Cytion kataloga numurs 305820)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0063 (vecāku 293T)

GMO Status

ĢMO statuss Ģenētiski modificēts (adenovīrusa 5. tipa DNS transformācija; SV40 lielā T antigēna ekspresija)

Biomolekulārie dati**Protein expression**

SV40 lielais T antigēns

Antigen expression

SV40 lielais T antigēns

Oncogenes

SV40 lielais T antigēns

Tumorigenic

tumorigēns imūndeficītiem pelēm (293T gadījumā)

Viruses

Satur adenovīrusa 5. tipa DNS; izsaka SV40 lielā T antigēna

Virus susceptibility

Ļoti labvēlīgs lentivīrusu ražošanai

Ploidy status

Aneuploīds, hipotriploīds (ziņots par 293T)

Mutational profile

Nav pilnībā raksturots; satur integrētu adenovīrusa 5 DNS un SV40 lielā T antigēna konstrukciju.

Karyotype

Aneuploīds cilvēka kariotips ar vairākiem hromosomu anomālijām (tipisks 293T gadījumam)

Darbs ar

Lenti-X293T šūnas | 305820

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–24 stundas
Subculturing	Sadaliet pirms pilnīgas saplūšanas; pēc atkausēšanas ļaujiet līdz 48 stundām, lai notiktu pilnīga saistišanās.
Split ratio	Ieteicamais attiecība ir no 1:5 līdz 1:10.
Seeding density	2 līdz 4×10^4 šūnas/cm ²
Fluid renewal	Ik pēc 2–3 dienām
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Lenti-X293T šūnas | 305820**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze