

Komórki Lenti-X293T | 305820**Informacje ogólne****Description**

Komórki Lenti-X293T są pochodną linii komórek ludzkiej nerki embrionalnej 293T, zmodyfikowanych i zoptymalizowanych specjalnie pod kątem wysokowydajnej produkcji wektorów lentiwirusowych. Podobnie jak komórki macierzyste 293T, stabilnie wyrażają one duży antygen T wirusa SV40, który umożliwia epizomalną replikację plazmidów zawierających początek replikacji SV40 i znacznie zwiększa wydajność transfekcji przejściowej. Komórki Lenti-X293T wykazują przylegającą morfologię nabłonkową i silne właściwości wzrostowe w standardowych warunkach hodowli z dodatkiem surowicy, co sprzyja hodowli o wysokiej gęstości, odpowiedniej do produkcji wirusów na dużą skalę.

Linia komórkowa została wybrana ze względu na doskonałą wydajność transfekcji przy użyciu odczynników na bazie fosforanu wapnia, lipidów lub polimerów, co skutkuje stale podwyższonym mianem lentiwirusów w porównaniu z konwencjonalnymi populacjami HEK293T. Zwiększona produkcja wirusa wynika z optymalizacji fizjologii komórek, która wspiera skuteczne pobieranie plazmidów, silną ekspresję transgenów oraz skuteczne składanie i uwalnianie cząstek lentiwirusowych niezdolnych do replikacji w przypadku współtransfekcji z odpowiednimi konstrukcjami opakowaniowymi i otoczki. Komórki Lenti-X293T są zatem szeroko stosowane do wytwarzania wektorów lentiwirusowych trzeciej generacji w zastosowaniach związanych z dostarczaniem genów, edycją genów i inżynierią stabilnych linii komórkowych.

Komórki Lenti-X293T zachowują ogólną użyteczność systemów pochodnych HEK293 do badań nad ekspresją białek rekombinowanych na wysokim poziomie i przejściową ekspresją genów. Ich stabilne właściwości wzrostowe i powtarzalna wydajność sprawiają, że nadają się one zarówno do zastosowań badawczych na małą skalę, jak i do skalowalnych ustawień produkcyjnych, pod warunkiem przestrzegania standardowych wytycznych dotyczących bezpieczeństwa biologicznego i pakowania wektorów dla systemów lentiwirusowych.

Organism

Człowiek

Tissue

Nerka embrionalna

Disease

Przekształcona linia komórkowa (komórki HEK przekształcone DNA adenowirusa typu 5)

Applications

Produkcja wektorów lentiwirusowych; transfekcja przejściowa; ekspresja białek rekombinowanych na wysokim poziomie; pakowanie wirusów

Synonyms

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

Charakterystyka**Age**

Płód

Gender

Kobieta

Morphology

Podobny do nabłonka

Komórki Lenti-X293T | 305820**Cell type** Embrionalne komórki nabłonkowe nerki**Growth properties** Adherentny; wysoka transfekcyjność; silna ekspresja białka wirusowego**Dane regulacyjne****Citation** Lenti-X293T (numer katalogowy Cytion 305820)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0063 (rodzicielski 293T)**GMO Status** Status GMO Genetycznie modyfikowany (transformacja DNA adenowirusa typu 5; ekspresja dużego antygeny T wirusa SV40)**Dane biomolekularne****Protein expression** Antygen T wirusa SV40**Antigen expression** Antygen T wirusa SV40**Oncogenes** Antygen T wirusa SV40**Tumorigenic** nowotworowy u myszy z obniżoną odpornością (dla 293T)**Viruses** Zawiera DNA adenowirusa typu 5; wyraża duży antygen T wirusa SV40.**Virus susceptibility** Wysoka tolerancja na produkcję lentiwirusów**Ploidy status** Aneuploid, hipotriploid (zgłoszony dla 293T)**Mutational profile** Nie w pełni scharakteryzowany; zawiera zintegrowany adenowirus 5 DNA i konstrukt dużego antygeny T SV40.**Karyotype** Aneuploidalny kariotyp człowieka z wieloma nieprawidłowościami chromosomowymi (typowymi dla 293T)

Komórki Lenti-X293T | 305820**Obsługa**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–24 godziny
Subculturing	Rozdzielić przed osiągnięciem pełnego połączenia; po rozmrożeniu odczekać do 48 godzin, aby uzyskać pełne połączenie.
Split ratio	Zalecany stosunek wynosi od 1:5 do 1:10.
Seeding density	2 do 4 x 10 ⁴ komórek/cm ²
Fluid renewal	Co 2-3 dni
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna