

Celice Lenti-X293T | 305820**Splošne informacije****Description**

Celice Lenti-X293T so derivat človeške embrionalne ledvice 293T, ki so bile posebej razvite in optimizirane za visoko učinkovito proizvodnjo lentiviralnih vektorjev. Podobno kot matične celice 293T stabilno izražajo velik antigen SV40 T, ki omogoča episomalno replikacijo plazmidov, ki vsebujejo izvor replikacije SV40, in znatno poveča učinkovitost prehodne transfekcije. Celice Lenti-X293T kažejo adhezivno epitelno morfologijo in robustne rastne lastnosti v standardnih pogojih gojenja s serumskim dodatkom, kar omogoča gojenje v visoki gostoti, primerno za velikoserijsko proizvodnjo virusov.

Ta celična linija je bila izbrana zaradi vrhunske učinkovitosti transfekcije z uporabo kalcijevega fosfata, lipidnih ali polimernih reagentov, kar ima za posledico dosledno povišane lentiviralne titere v primerjavi s konvencionalnimi populacijami HEK293T. Povečana virusna proizvodnja se pripisuje optimizirani celični fiziologiji, ki podpira učinkovito absorpcijo plazmidov, močno ekspresijo transgenov ter učinkovito sestavljanje in sproščanje lentivirusnih delcev, ki niso sposobni replikacije, ko se sočasno transfektirajo z ustreznimi konstrukcijami za pakiranje in ovoj. Celice Lenti-X293T se zato široko uporabljajo za ustvarjanje tretje generacije lentivirusnih vektorjev v aplikacijah za dostavo genov, urejanje genov in inženiring stabilnih celičnih linij.

Celice Lenti-X293T ohranjajo splošno uporabnost sistemov, pridobljenih iz HEK293, za visoko raven ekspresije rekombinantnih proteinov in študije prehodne ekspresije genov. Njihove stabilne rastne lastnosti in reproduktivna zmogljivost jih naredijo primerne tako za raziskovalne aplikacije v majhnem obsegu kot za prilagodljive proizvodne nastavitve, pod pogojem, da se za lentiviralne sisteme upoštevajo standardna navodila za biološko varnost in pakiranje vektorjev.

Organism

Človek

Tissue

Embrionalna ledvica

Disease

Transformirana celična linija (adenovirus tipa 5 DNA-transformirane HEK celice)

Applications

Proizvodnja lentiviralnih vektorjev; prehodna transfekcija; visoka raven ekspresije rekombinantnih proteinov; pakiranje virusov

Synonyms

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

Značilnosti**Age**

Plod

Gender

Ženska

Morphology

Epitelijam podobni

Cell type

Embrionalne epitelne celice ledvic

Celice Lenti-X293T | 305820

Growth properties

Adherentni; visoka transfekcijska sposobnost; močna ekspresija virusnih proteinov

Regulativni podatki**Citation**

Lenti-X293T (številka kataloga Cytion 305820)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0063 (starševski 293T)

GMO Status

Status GSO Gensko spremenjen (transformacija adenovirusa tipa 5 DNA; ekspresija velikega T antigena SV40)

Biomolekularni podatki**Protein expression**

SV40 velik T antigen

Antigen expression

SV40 velik T antigen

Oncogenes

SV40 velik T antigen

Tumorigenic

tumorigenen pri imunsko oslabljenih miših (za 293T)

Viruses

Vsebuje adenovirus tipa 5 DNA; izraža SV40 velik T antigen

Virus susceptibility

Zelo permisiven za proizvodnjo lentivirusov

Ploidy status

Aneuploid, hipotriploid (poročano za 293T)

Mutational profile

Ni v celoti opisan; vsebuje integrirano adenovirusno 5 DNA in SV40 velik T antigen konstrukt.

Karyotype

Aneuploidni človeški kariotip z več kromosomskimi anomalijami (značilen za 293T)

Ravnanje s spletno stranjo

Celice Lenti-X293T | 305820

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–24 ur
Subculturing	Razdelite pred popolnim združitvijo; po odmrzovanju počakajte do 48 ur, da se popolnoma pritrdi.
Split ratio	Priporočljivo je razmerje od 1:5 do 1:10.
Seeding density	2 do 4 x 10 ⁴ celic/cm ²
Fluid renewal	Vsake 2–3 dni
Freeze medium	Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

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

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavrzite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza