

AAV-293-celler | 305127

Generel information

Description

AAV-293-cellelinjen er en permanent linje, der er etableret fra primære embryonale humane nyrer, der er transformeret med humant adenovirus type 5-DNA. De gener, der kodes af E1-regionen i adenovirus (E1a og E1b), udtrykkes i disse celler og deltager i transaktivering af virale promotorer, hvilket gør det muligt for disse celler at producere høje niveauer af protein.

AAV-293 stammer fra den parentale 293-cellelinje, og gennem kloning og flere testrunder er AAV-293 specifikt udvalgt til et højt niveau af AAV-produktion i et hjælperfrit system. Det giver flere fordele i forhold til de almindelige 293-celler: Større celleoverflade, hvilket resulterer i højere transfektion og bedre udbytte af AAV.

Fordele er en fladtrykt morfologi, fast vedhæftning til kulturpladen, og cellerne er ideelle til dyrkning i stor skala og AAV-produktion. Adeno-associeret virus (AAV) tilhører familien Parvoviridae, en gruppe vira blandt de mindste enkeltstrengede og ikke-hylstrede DNA-vira.

Der er til dato rapporteret om ni forskellige AAV-serotyper. AAV kan inficere både celler, der deler sig, og celler, der ikke deler sig, og kan bevares i den menneskelige værtselle, hvilket giver mulighed for langvarig genoverførsel. Rekombinant AAV-2 er den mest almindelige serotype, der bruges til genoverførsel, og den kan produceres i høje koncentrationer med en hjælpevirus eller AAV-293-celler.

Organism Menneske

Tissue Embryonal nyre

Synonyms AAV293

Karakteristika

Age Foster

Gender Kvinde

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation AAV-293 (Cytion katalognummer 305127)

Biosafety level 1

AAV-293-celler | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: Denne HEK293-afledte AAV-293-linje indeholder klonale modifikationer, der understøtter AAV-vektorproduktion. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Supplér mediet med 10 % FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 5 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

AAV-293-celler | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

AAV-293-celler | 305127

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.