Product sheet

Κύτταρα AAV-293 | 305127

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά AAV-293 είναι μια μόνιμη σειρά που δημιουργήθηκε από πρωτογενή εμβρυϊκό ανθρώπινο νεφρό μετασχηματισμένο με DNA ανθρώπινου αδενοϊού τύπου 5. Τα γονίδια που κωδικοποιούνται από την περιοχή E1 του αδενοϊού (E1α και E1β) εκφράζονται σε αυτά τα κύτταρα και συμμετέχουν στην ενεργοποίηση των ιικών υποκινητών, επιτρέποντας στα κύτταρα αυτά να παράγουν υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης. Ο AAV-293 προέρχεται από τη γονική σειρά κυττάρων 293, μέσω κλωνοποίησης και πολλαπλών γύρων δοκιμών, ο AAV-293 επιλέγεται ειδικά για υψηλό επίπεδο παραγωγής AAV σε σύστημα χωρίς βοηθητικό υλικό. Προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τα κανονικά κύτταρα 293: Μεγαλύτερη κυτταρική επιφάνεια με αποτέλεσμα υψηλότερη διαμόλυνση και καλύτερη απόδοση AAV. Τα πλεονεκτήματα είναι η πεπλατυσμένη μορφολογία, η σταθερή προσκόλληση στην πλάκα καλλιέργειας και τα κύτταρα είναι ιδανικά για καλλιέργεια μεγάλης κλίμακας και παραγωγή AAV. Ο αδενο-συνδεδεμένος ιός (AAV) ανήκει στην οικογένεια των Parvoviridae, μια ομάδα ιών μεταξύ των μικρότερων από τους μονόκλωνους και μη περιτυλιγμένους ιούς DNA. Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί εννέα διαφορετικοί ορότυποι AAV. Οι AAV μπορούν να μολύνουν τόσο διαιρούμενα όσο και μη διαιρούμενα κύτταρα και μπορούν να διατηρηθούν στο ανθρώπινο κύτταρο ξενιστή, δημιουργώντας τη δυνατότητα μακροχρόνιας μεταφοράς γονιδίων. Ο ανασυνδυασμένος AAV-2 είναι ο πιο κοινός ορότυπος που χρησιμοποιείται στη μεταφορά γονιδίων και μπορεί να παραχθεί σε υψηλούς τίτλους με έναν βοηθητικό ιό ή κύτταρα AAV-293.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εμβρυϊκός νεφρός
Synonyms	AAV293

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιακό
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	AAV-293 (αριθμός καταλόγου Cytion 305127)

Κύτταρα AAV-293 | 305127

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6871
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η γραμμή AAV-293 που προέρχεται από HEK293 περιέχει κλωνικές τροποποιήσεις που υποστηρίζουν την παραγωγή φορέων AAV. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 0,1 mM NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, επαναιωρήστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα AAV-293 | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα AAV-293 | 305127

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.