

AAV-293 rakud | 305127

Üldine teave

Description

AAV-293 rakuliin on alaline liin, mis on loodud inimese embrüonaalsetest neerudest, mis on transformeeritud inimese adenoviiruse 5. tüüpi DNA-ga. Adenoviiruse E1 piirkonna poolt kodeeritud geenid (E1a ja E1b) ekspresseeruvad nendes rakkudes ja osalevad viiruse promootorite transaktivatsioonis, mis võimaldab neil rakkudel toota suurel hulgal valku.

AAV-293 on saadud 293 vanemrakuliinist, kloonimise ja mitmete testimisvoorude kaudu on AAV-293 spetsiaalselt valitud kõrge AAV tootmise tasemega abivajavaba süsteemis. Sellel on tavapäraste 293 rakkude ees mitmeid eeliseid: Suurem raku pindala, mille tulemuseks on suurem transfektsioon ja parem AAV saagis.

Eelisteks on lamedam morfoloogia, kindel kinnitus kultuurplaadile ning rakud on ideaalsed suuremahuliseks kasvatamiseks ja AAV tootmiseks. Adeno-assotsieerunud viirused (AAV) kuuluvad parvoviiruste sugukonda, mis on väikseimate üheaheeliste ja ümbrikuta DNA-viiruste hulka kuuluv viiruste rühm.

Praeguseks on teatatud üheksast erinevast AAV serotüübist. AAV võib nakatada nii jagunevaid kui ka jagunemata rakke ja säilida inimese peremeesrakus, mis loob võimaluse pikaajaliseks geeniedastuseks. Rekombinantsed AAV-2 on kõige levinum serotüüp, mida kasutatakse geeniedastuses, ja seda saab toota kõrge tiitri juures koos abiviiruse või AAV-293 rakkudega.

Organism Inimene

Tissue Embrüonaalne neer

Synonyms AAV293

Omadused

Age Loote

Gender Naised

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation AAV-293 (Cytioni katalooginumber 305127)

Biosafety level 1

AAV-293 rakud | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: See HEK293-st saadud AAV-293 liin sisaldab AAV-vektori tootmist toetavaid kлонаalseid modifikatsioone. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 0,1 mM NEAAGA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida toatemperatuuril 5 minutit, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

AAV-293 rakud | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

AAV-293 rakud | 305127

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.