

AAV-293-solut | 305127

Yleisiä tietoja

Description

AAV-293-solulinja on pysyvä linja, joka on luotu ihmisen alkion munuaisesta, joka on muunnettu ihmisen adenoviruksen tyyppiin 5 DNA:lla. Adenoviruksen E1-alueen koodaamat geenit (E1a ja E1b) ilmestyvät näissä soluissa ja osallistuvat viruspromootorien transaktivaatioon, minkä ansiosta nämä solut pystyvät tuottamaan suuria määriä proteiinia.

AAV-293 on johdettu 293-solulinjan vanhemmasta solulinjasta, ja kloonauksen ja useiden testikierrosten avulla AAV-293 on valittu erityisesti korkea AAV-tuotantoa varten auttajavapaassa järjestelmässä. Sillä on useita etuja tavallisiin 293-soluihin verrattuna: Suurempi solupinta-ala, mikä johtaa suurempaan transfektioon ja parempaan AAV:n tuottoon.

Etuja ovat litteä morfologia, kiinteä kiinnittyminen viljelylevyyn ja solut ovat ihanteellisia laajamittaiseen viljelyyn ja AAV-tuotantoon. Adeno-assosioitunut virus (AAV) kuuluu Parvoviridae-heimoon, joka on pienimpiin yksisäikeisiin ja kuorettomiin DNA-virusiin kuuluva virusten ryhmä.

Tähän mennessä on raportoitu yhdeksän erilaista AAV-serotyyppiä. AAV voi infektoida sekä jakautuvia että jakautumattomia soluja, ja se voi säilyä ihmisen isäntäsolussa, mikä luo mahdollisuuden pitkäaikaiseen geeninsiirtoon. Rekombinantti AAV-2 on yleisin geeninsiirrossa käytetty serotyyppi, ja sitä voidaan tuottaa korkeilla tittereillä apuviruksen tai AAV-293-solujen avulla.

Organism Ihminen

Tissue Alkion munuainen

Synonyms AAV293

Ominaisuudet

Age Sikiö

Gender Nainen

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation AAV-293 (Cytionin luettelonumero 305127)

Biosafety level 1

AAV-293-solut | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: Tämä HEK293:sta peräisin oleva AAV-293-linja sisältää AAV-vektorin tuotantoa tukevia kloonimuutoksia. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.**Biomolekyylitiedot****Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:ää, 0,1 mM NEAA:lla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 5 minuuttia niiden irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

AAV-293-solut | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

AAV-293-solut | 305127

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.