

Cellule AAV-293 | 305127

Informazioni generali

Description

La linea cellulare AAV-293 è una linea permanente ottenuta da reni umani embrionali primari trasformati con DNA di adenovirus umano di tipo 5. I geni codificati dalla regione E1 dell'adenovirus (E1a ed E1b) sono espressi in queste cellule e partecipano alla transattivazione dei promotori virali, consentendo a queste cellule di produrre elevati livelli di proteine.

L'AAV-293 è derivato dalla linea cellulare parentale 293; attraverso il clonaggio e molteplici cicli di test, l'AAV-293 è stato specificamente selezionato per un alto livello di produzione di AAV in un sistema privo di helper. Offre diversi vantaggi rispetto alle normali cellule 293: Una superficie cellulare più ampia che determina una maggiore trasfezione e una migliore resa di AAV.

I vantaggi sono una morfologia appiattita, un fissaggio stabile alla piastra di coltura e le cellule sono ideali per colture su larga scala e per la produzione di AAV. Il virus adeno-associato (AAV) appartiene alla famiglia dei Parvoviridae, un gruppo di virus tra i più piccoli a DNA a singolo filamento e non sviluppati.

Ad oggi sono stati segnalati nove diversi sierotipi di AAV. L'AAV può infettare sia le cellule in divisione che quelle non in divisione e può essere mantenuto nella cellula ospite umana, creando il potenziale per un trasferimento genico a lungo termine. L'AAV-2 ricombinante è il sierotipo più comunemente utilizzato per la somministrazione di geni e può essere prodotto ad alti titoli con un virus helper o con cellule AAV-293.

Organism Umano

Tissue Rene embrionale

Synonyms AAV293

Caratteristiche

Age Feto

Gender Donna

Morphology Epiteliale

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation AAV-293 (catalogo Cytion numero 305127)

Biosafety level 1

Cellule AAV-293 | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: questa linea HEK293 derivata da AAV-293 contiene modifiche clonali che supportano la produzione di vettori AAV. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.**Dati biomolecolari****Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutamina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 5 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** da 1:3 a 1:5**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule AAV-293 | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule AAV-293 | 305127

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.