

AAV-293 ląstelės | 305127

Bendra informacija

Description

AAV-293 ląstelių linija yra nuolatinė linija, sukurta iš pirminių embrioninių žmogaus inkstų, transformuotų 5 tipo žmogaus adenoviruso DNR. Šiose ląstelėse išreiškiami adenoviruso E1 srities koduojami genai (E1a ir E1b), kurie dalyvauja viruso promotorių transaktyvavime, todėl šios ląstelės gali gaminti didelį kiekį baltymų.

AAV-293 yra išvesta iš tėvinės 293 ląstelių linijos, klonavimo ir daugkartinių bandymų metu AAV-293 yra specialiai atrinkta siekiant didelio AAV gamybos lygio sistemoje be pagalbininkų. Ji turi keletą privalumų, palyginti su įprastomis 293 ląstelėmis: Didesnis ląstelių paviršiaus plotas, dėl kurio padidėja transfekcija ir AAV išeiiga.

Privalumai - plokščia morfologija, tvirtas prisitvirtinimas prie kultūros plokštelės, ląstelės idealiai tinka didelio masto kultūroms ir AAV gamybai. Adeno asocijuotas virusas (AAV) priklauso Parvoviridae šeimai, virusų grupei, kuri yra viena iš mažiausių viengrandinių ir neapgaubtų DNR virusų.

Iki šiol pranešta apie devynis skirtingus AAV serotipus. AAV gali užkrėsti tiek besidalijančias, tiek nesidalijančias ląsteles ir gali išlikti žmogaus ląstelėje-šeimininke, todėl atsiranda ilgalaikio genų perdavimo galimybė. Rekombinantinis AAV-2 yra dažniausiai genų perdavimui naudojamas serotipas, kuris gali būti gaminamas dideliais titrais su pagalbinio virusu arba AAV-293 ląstelėmis.

Organism Žmogus

Tissue Embrioninis inkstas

Synonyms AAV293

Charakteristikos

Age Vaisius

Gender Moteris

Morphology Epitelis

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation AAV-293 (Cytion katalogo numeris 305127)

Biosafety level 1

AAV-293 ląstelės | 305127

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6871

GMO Status GMO-S1: šioje iš HEK293 kilusioje AAV-293 linijoje yra kloninių modifikacijų, padedančių gaminti AAV vektorius. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS, 0,1 mM NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 5 minutes, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl susigertų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

AAV-293 ląstelės | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

AAV-293 ląstelės | 305127

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.