

AAV-293 šūnas | 305127

Vispārīga informācija

Description

AAV-293 šūnu līnija ir pastāvīga līnija, kas izveidota no primārās embrionālās cilvēka nierēs, kas pārveidota ar cilvēka 5. tipa adenovīrusa DNS. Šajās šūnās tiek ekspresēti adenovīrusa E1 reģiona kodētie gēni (E1a un E1b), kas piedalās vīrusa promotoru transaktivācijā, ļaujot šīm šūnām ražot lielu olbaltumvielu daudzumu.

AAV-293 ir atvasināta no vecāku 293 šūnu līnijas, klonēšanas un vairāku testēšanas kārtu rezultātā AAV-293 ir īpaši atlasīta augstam AAV ražošanas līmenim sistēmā bez palīgvielām. Tai ir vairākas priekšrocības salīdzinājumā ar parastajām 293 šūnām: Lielāka šūnu virsmas platība, kas nodrošina lielāku transfekciju un labāku AAV iznākumu.

Priekšrocības ir saīsināta morfoloģija, stingra piestiprināšanās pie kultūras plātes, un šūnas ir ideāli piemērotas liela mēroga kultūrām un AAV ražošanai. Adenoasociētais vīruss (AAV) pieder Parvoviridae dzimtas vīrusu grupai, kas ir viena no mazākajām viēnšūņaino un neapvalkoto DNS vīrusu grupām.

Līdz šim ir reģistrēti deviņi dažādi AAV serotipi. AAV var inficēt gan dalāmās, gan nedalāmās šūnas un var saglabāties cilvēka saimnieka šūnā, radot potenciālu ilgtermiņa gēnu pārnesei. Rekombinantais AAV-2 ir visizplatītākais serotips, ko izmanto gēnu pārnēsāšanai, un to var iegūt lielā titrā ar palīgvirusu vai AAV-293 šūnām.

Organism Cilvēks

Tissue Embrionālā niere

Synonyms AAV293

Raksturojums

Age Auglis

Gender Sievietes

Morphology Epitēlija

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation AAV-293 (Cytion kataloga numurs 305127)

Biosafety level 1

AAV-293 šūnas | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: šī no HEK293 atvasinātā AAV-293 līnija satur klonu modifikācijas, kas atbalsta AAV vektora ražošanu. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām 5 minūtes inkubēties istabas temperatūrā, lai tās atdalītos. Pēc inkubēšanas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, tad centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

AAV-293 šūnas | 305127

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

AAV-293 šūnas | 305127

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.