

AAV-293 Cellen | 305127

Algemene informatie

Description

De AAV-293-celijn is een permanente lijn die is gemaakt van primaire embryonale menselijke nieren die zijn getransformeerd met DNA van het humane adenovirus type 5. De genen gecodeerd door de E1-regio van het adenovirus (E1a en E1b) komen tot expressie in deze cellen en nemen deel aan de transactivatie van virale promotors, waardoor deze cellen hoge eiwitniveaus kunnen produceren.

AAV-293 is afgeleid van de ouderlijke 293 celijn. Door klonering en meerdere testondes is AAV-293 specifiek geselecteerd voor een hoog niveau van AAV-productie in een helper-vrij systeem. Het biedt verschillende voordelen ten opzichte van de gewone 293 cellen: Groter celoppervlak wat resulteert in een hogere transfectie en een betere opbrengst van AAV.

De voordelen zijn een afgeplatte morfologie, stevige hechting aan de kweekplaat en de cellen zijn ideaal voor grootschalige kweek en AAV-productie. Adeno-geassocieerd virus (AAV) behoort tot de familie van de Parvoviridae, een groep virussen die tot de kleinste enkelstrengs en niet-ontwikkelde DNA-virussen behoren.

Tot op heden zijn er negen verschillende AAV-serotypes gerapporteerd. AAV kan zowel delende als niet-delende cellen infecteren en kan in de menselijke gastheercel worden gehandhaafd, waardoor genoverdracht op lange termijn mogelijk wordt. Recombinant AAV-2 is het meest gebruikte serotype voor genoverdracht en kan aan hoge titers geproduceerd worden met een helpervirus of AAV-293 cellen.

Organism Mens

Tissue Embryonale nier

Synonyms AAV293

Kenmerken

Age Foetus

Gender Vrouw

Morphology Epitheel

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation AAV-293 (Cytion catalogusnummer 305127)

Biosafety level 1

AAV-293 Cellen | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: Deze van HEK293 afgeleide AAV-293-lijn bevat klonale modificaties ter ondersteuning van de productie van AAV-vectoren. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders verschillen.**Biomoleculaire gegevens****Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen 5 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** 1:3 tot 1:5**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

AAV-293 Cellen | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

AAV-293 Cellen | 305127

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.