

Komórki AAV-293 | 305127**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa AAV-293 jest stałą linią utworzoną z pierwotnej embrionalnej ludzkiej nerki transformowanej ludzkim DNA adenowirusa typu 5. Geny kodowane przez region E1 adenowirusa (E1a i E1b) ulegają ekspresji w tych komórkach i uczestniczą w transaktywacji promotorów wirusowych, umożliwiając tym komórkom wytwarzanie wysokich poziomów białka.

AAV-293 wywodzi się z macierzystej linii komórkowej 293, poprzez klonowanie i wiele rund testów, AAV-293 została specjalnie wyselekcjonowana pod kątem wysokiego poziomu produkcji AAV w systemie wolnym od pomocników. Oferuje ona kilka zalet w porównaniu ze zwykłymi komórkami 293: Większa powierzchnia komórek skutkuje wyższą transfekcją i lepszą wydajnością AAV.

Zaletami są spłaszczona morfologia, silne przywiązanie do płytki hodowlanej, a komórki są idealne do hodowli na dużą skalę i produkcji AAV. Wirus adenowirusowy (AAV) należy do rodziny Parvoviridae, grupy wirusów należących do najmniejszych jednociowych i nieotoczkowych wirusów DNA.

Do tej pory zgłoszono dziewięć różnych serotypów AAV. AAV może infekować zarówno dzielące się, jak i nie dzielące się komórki i może być utrzymywany w ludzkiej komórce gospodarza, tworząc potencjał do długoterminowego transferu genów. Rekombinowany AAV-2 jest najczęstszym serotypem stosowanym do dostarczania genów i może być produkowany w wysokich mianach z wirusem pomocniczym lub komórkami AAV-293.

Organism Człowiek

Tissue Nerka embrionalna

Synonyms AAV293

Charakterystyka

Age Płód

Gender Kobieta

Morphology Nabłonek

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation AAV-293 (numer katalogowy Cytion 305127)

Komórki AAV-293 | 305127**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: Ta linia AAV-293 pochodząca z HEK293 zawiera modyfikacje klonalne wspomagające produkcję wektorów AAV. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic pożywkę 10% FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby je ponownie zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:3 do 1:5**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki AAV-293 | 305127**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki AAV-293 | 305127

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.