

Celule AAV-293 | 305127

Informații generale

Description

Linia celulară AAV-293 este o linie permanentă stabilită din rinichi uman embrionar primar transformat cu ADN de adenovirus uman tip 5. Genele codificate de regiunea E1 a adenovirusului (E1a și E1b) sunt exprimate în aceste celule și participă la transactivarea promotorilor virali, permițând acestor celule să producă niveluri ridicate de proteine.

AAV-293 este derivat din linia celulară parentală 293, prin clonare și mai multe runde de testare, AAV-293 este selectat în mod specific pentru un nivel ridicat de producție de AAV într-un sistem fără ajutor. Aceasta oferă mai multe avantaje față de celulele 293 obișnuite: O suprafață celulară mai mare, ceea ce duce la o transfecție mai mare și la o producție mai bună de AAV.

Avantajele sunt o morfologie aplatizată, o fixare fermă pe placa de cultură, iar celulele sunt ideale pentru cultura pe scară largă și producția de AAV. Virusul adeno-asociat (AAV) face parte din familia Parvoviridae, un grup de virusuri dintre cele mai mici virusuri ADN monocatenare și neînvelite.

Există nouă serotipuri diferite de AAV raportate până în prezent. AAV poate infecta atât celulele care se divid, cât și pe cele care nu se divid și poate fi menținut în celula gazdă umană, creând potențialul pentru transferul de gene pe termen lung. AAV-2 recombinant este cel mai frecvent serotip utilizat în transmiterea de gene și poate fi produs la titruri ridicate cu un virus ajutător sau cu celule AAV-293.

Organism Om

Tissue Rinichi embrionar

Synonyms AAV293

Caracteristici

Age Fetusul

Gender Femei

Morphology Epitelial

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation AAV-293 (număr de catalog Cytion 305127)

Biosafety level 1

Celule AAV-293 | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** OMG-S1: această linie AAV-293 derivată din HEK293 conține modificări clonale care susțin producerea vectorului AAV. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate fi diferită în alte țări.

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Se îndepărtează mediul vechi de pe celulele aderente și se spală cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 5 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Se aruncă supernatantul, se resuspendă celulele în mediu proaspăt și se transferă în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule AAV-293 | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule AAV-293 | 305127

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.