

AAV-293-celler | 305127

Allmän information

Description

Cellinjen AAV-293 är en permanent linje som etablerats från primär embryonal mänsklig njure som transformerats med DNA från humant adenovirus typ 5. De gener som kodas av E1-regionen i adenovirus (E1a och E1b) uttrycks i dessa celler och deltar i transaktivering av virala promotorer, vilket gör att dessa celler kan producera höga nivåer av protein.

AAV-293 härrör från den föräldralika 293-cellinjen, genom kloning och flera testomgångar är AAV-293 specifikt utvald för en hög nivå av AAV-produktion i ett hjälparfritt system. Den erbjuder flera fördelar jämfört med de vanliga 293-cellerna: Större cellyta resulterar i högre transfektion och bättre utbyte av AAV.

Fördelarna är en tillplattad morfologi, fast förankring på odlingsplattan och att cellerna är idealiska för storskalig odling och AAV-produktion. Adenoassocierat virus (AAV) tillhör familjen Parvoviridae, en grupp virus som tillhör de minsta av enkelsträngade och icke-höljda DNA-virus.

Det finns nio olika AAV-serotyper som rapporterats hittills. AAV kan infektera både delande och icke-delande celler och kan bibehållas i den mänskliga värdcellen, vilket skapar potential för långsiktig genöverföring. Rekombinant AAV-2 är den vanligaste serotypen som används vid genöverföring och kan produceras i höga titrar med hjälp av ett hjälparvirus eller AAV-293-celler.

Organism Människan

Tissue Embryonal njure

Synonyms AAV293

Egenskaper

Age Foster

Gender Kvinna

Morphology Epitelial

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation AAV-293 (Cytion katalognummer 305127)

Biosafety level 1

AAV-293-celler | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: Denna HEK293-deriverade AAV-293-linje innehåller klonala modifieringar som stödjer produktion av AAV-vektorer. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 5 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen blandas cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugeras sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** 1:3 till 1:5**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

AAV-293-celler | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

AAV-293-celler | 305127

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.