

Celice AAV-293 | 305127

Splošne informacije

Description

Celična linija AAV-293 je stalna linija, ki je nastala iz primarnih embrionalnih človeških ledvic, preoblikovanih z DNK človeškega adenovirusa tipa 5. V teh celicah se izražajo geni, ki jih kodira regija E1 adenovirusa (E1a in E1b), in sodelujejo pri transaktivaciji virusnih promotorjev, kar tem celicam omogoča proizvodnjo visokih ravni beljakovin.

AAV-293 izhaja iz starševske celične linije 293. S kloniranjem in več krogi testiranja je AAV-293 posebej izbran za visoko raven proizvodnje AAV v sistemu brez pomočnikov. V primerjavi z običajnimi celicami 293 ima več prednosti: Večja površina celic omogoča večjo transfekcijo in boljši izkoristek AAV.

Prednosti so sploščena morfologija, čvrsta pritrditev na gojitveno ploščo, celice pa so idealne za gojenje v velikem obsegu in proizvodnjo AAV. Adeno-asociirani virus (AAV) spada v družino Parvoviridae, skupino virusov, ki je med najmanjšimi enoverižnimi in neobvitimi virusi DNK.

Do zdaj so poročali o devetih različnih serotipih AAV. AAV lahko okuži deljive in nedeljive celice ter se lahko ohrani v človeški gostiteljski celici, kar omogoča dolgoročni prenos genov. Rekombinantni AAV-2 je najpogostejši serotip, ki se uporablja za prenos genov, in ga je mogoče proizvesti v visokih titrih s pomožnim virusom ali celicami AAV-293.

Organism Človek

Tissue Embrionalna ledvica

Synonyms AAV293

Značilnosti

Age Plod

Gender Ženske

Morphology Epitelijski

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation AAV-293 (katalogska številka Cytion 305127)

Biosafety level 1

Celice AAV-293 | 305127

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6871

GMO Status GSO-S1: Ta linija AAV-293, pridobljena iz HEK293, vsebuje klonske modifikacije, ki podpirajo proizvodnjo vektorjev AAV. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo**

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 0,1 mM NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 5 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da jih ponovno suspendirate, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice AAV-293 | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice AAV-293 | 305127

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.