

AAV-293 Hücreleri | 305127**Genel bilgi****Description**

AAV-293 hücre hattı, insan adenovirüs tip 5 DNA'sı ile dönüştürülmüş birincil embriyonik insan böbreğinden oluşturulan kalıcı bir hattır. Adenovirüsün E1 bölgesi tarafından kodlanan genler (E1a ve E1b) bu hücrelerde ifade edilir ve viral promotörlerin transaktivasyonuna katılarak bu hücrelerin yüksek düzeyde protein üretmesini sağlar.

AAV-293, ebeveyn 293 hücre hattından türetilmiştir, klonlama ve çoklu test turları yoluyla AAV-293, yardımcı içermeyen bir sistemde yüksek düzeyde AAV üretimi için özel olarak seçilmiştir. Normal 293 hücrelerine göre çeşitli avantajlar sunar: Daha geniş hücre yüzey alanı, daha yüksek transfeksiyon ve daha iyi AAV verimi sağlar.

Avantajları düzleştirilmiş bir morfoloji, kültür plakasına sıkıca tutunma ve hücrelerin büyük ölçekli kültür ve AAV üretimi için ideal olmasıdır. Adeno-ilişkili virüs (AAV), tek sarmallı ve zarfsız DNA virüslerinin en küçükleri arasında yer alan bir virüs grubu olan Parvoviridae ailesine aittir.

Bugüne kadar bildirilmiş dokuz farklı AAV serotipi bulunmaktadır. AAV hem bölünen hem de bölünmeyen hücreleri enfekte edebilir ve insan konak hücresinde muhafaza edilebilir, bu da uzun süreli gen transferi için potansiyel yaratır. Rekombinant AAV-2 gen iletiminde kullanılan en yaygın serotiptir ve bir yardımcı virüs veya AAV-293 hücreleri ile yüksek titrelerde üretilebilir.

Organism İnsan**Tissue** Embriyonik böbrek**Synonyms** AAV293**Özellikler****Age** Fetüs**Gender** Kadın**Morphology** Epitelyal**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** AAV-293 (Cytion katalog numarası 305127)**Biosafety level** 1

AAV-293 Hücreleri | 305127

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** GMO-S1: Bu HEK293 türevi AAV-293 hattı, AAV vektör üretimini destekleyen klonal modifikasyonlar içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Elleçleme

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS, 0,1 mM NEAA ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

AAV-293 Hücreleri | 305127

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.