

Клітини AAV-293 | 305127

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія AAV-293 - це постійна лінія, створена з первинних ембріональних клітин нирки людини, трансформованих ДНК аденовірусу людини типу 5. Гени, що кодуються областю E1 аденовірусу (E1a і E1b), експресуються в цих клітинах і беруть участь у трансактивації вірусних промоторів, що дозволяє цим клітинам виробляти високий рівень білка.

AAV-293 отримано з батьківської клітинної лінії 293 шляхом клонування та численних раундів тестування, AAV-293 був спеціально відібраний для забезпечення високого рівня виробництва AAV в безхелперній системі. Вона має кілька переваг над звичайними 293 клітинами: Більша площа поверхні клітин, що забезпечує вищу трансфекцію і кращий вихід AAV.

Перевагами також є сплюснена морфологія, міцне прикріплення до планшету, і клітини ідеально підходять для великомасштабного культивування та виробництва AAV. Аденоасоційований вірус (AAV) належить до родини Parvoviridae, групи вірусів, що належить до найменших серед одноланцюгових ДНК-вірусів без оболонки.

На сьогоднішній день відомо дев'ять різних серотипів AAV. AAV може інфікувати як клітини, що діляться, так і клітини, що не діляться, і може підтримуватися в клітині-хазяїні людини, створюючи потенціал для довготривалого перенесення генів. Рекombінантний AAV-2 є найпоширенішим серотипом, що використовується для доставки генів, і може вироблятися у високих титрах за допомогою вірусу-хелпера або клітин AAV-293.

Organism Людина

Tissue Ембріональна нирка

Synonyms AAV293

Характеристики

Age Плід

Gender Жінка

Morphology Епітеліальний

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation AAV-293 (номер за каталогом Cytion 305127)

Клітини AAV-293 | 305127

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія AAV-293, що походить від HEK293, містить клональні модифікації, що підтримують виробництво векторів AAV. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.**Біомолекулярні дані****Обробка****Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 0,1 мМ NEAA**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Дайте клітинам інкубуватися при кімнатній температурі протягом 5 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини AAV-293 | 305127

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.