AAV-293

305127

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De AAV-293-cellijn is een permanente lijn die is gemaakt van primaire embryonale menselijke nieren die zijn getransformeerd met DNA van het humane adenovirus type 5. De genen gecodeerd door de E1-regio van het adenovirus (E1a en E1b) komen tot expressie in deze cellen en nemen deel aan de transactivatie van virale promotors, waardoor deze cellen hoge eiwitniveaus kunnen produceren.
AAV-293 is afgeleid van de ouderlijke 293 cellijn. Door klonering en meerdere testrondes is AAV-293 specifiek geselecteerd voor een hoog niveau van AAV-productie in een helper-vrij systeem. Het biedt verschillende voordelen ten opzichte van de gewone 293 cellen: Groter celoppervlak wat resulteert in een hogere transfectie en een betere opbrengst van AAV.
De voordelen zijn een afgeplatte morfologie, stevige hechting aan de kweekplaat en de cellen zijn ideaal voor grootschalige kweek en AAV-productie. Adeno-geassocieerd virus (AAV) behoort tot de familie van de Parvoviridae, een groep virussen die tot de kleinste enkelstrengs en niet-ontwikkelde DNA-virussen behoren.
Tot op heden zijn er negen verschillende AAV-serotypes gerapporteerd. AAV kan zowel delende als niet-delende cellen infecteren en kan in de menselijke gastheercel worden gehandhaafd, waardoor genoverdracht op lange termijn mogelijk wordt. Recombinant AAV-2 is het meest gebruikte serotype voor genoverdracht en kan aan hoge titers geproduceerd worden met een helpervirus of AAV-293 cellen.

Weefsel	Embryonale nier

Synoniemen

- AAV293

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-status

GMO-S1: This HEK293-derived AAV-293 line contains clonal modifications supporting AAV vector production. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Epitheel

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

AAV-293 (Cytion catalogusnummer 305127)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_6871

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS, 0,1 mM NEAA

Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen 5 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Vloeistofverversing	2 tot 3 keer per week

Ontdooien en kweken

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	Foetus

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes