

BSL2-019 számú munkafolyamat dokumentálása

Melléklet-2 Úszó sejtek transzdukciója a vírust tartalmazó felülúszóval					
A vizsgálat dátuma:					
Kód	A munkafolyamat lépései	végrehajtás			Megjegyzés
		igen	nem	N/A	
5.03.01	0. nap: A transzdukálni kívánt emlős sejteket 6 lyukú lemezre helyezük úgy, hogy a kísérlet napjára 70%-os konfluenciát érjenek el.				
5.03.02	1. nap: Az úszó sejteket centrifugáljuk (1000 rpm, 8 perc), majd a felülúszó leszívása után a pelletet 1 ml komplett DMEM-ben/ RPMI-ben visszaoldjuk sejtvonaltól függően és visszamérjük a lyukakba. Ezt követően pipettával cseppenként hozzáadunk 1 ml vírust tartalmazó felülúszót a sejtekhez.				
5.03.03	2. nap: A következő nap reggel centrifugáljuk a sejteket, majd a vírust tartalmazó felülúszó leszívása után a pelletet oldjuk vissza 2 ml komplett tápfolyadékban és rakjuk vissza a megfelelő lyukba.				
5.03.04	3. nap: A sejteket centrifugáljuk, majd a pelletet oldjuk vissza 2 ml, a szelekciós komponenst megfelelő koncentrációban tartalmazó komplett médiumot teszünk a sejtekre. (A target sejteken korábban hígítási sort készítünk a szelekciós reagens hatékony koncentrációjának megállapítása céljából).				
5.03.05	A 3. naptól kezdve minden másnap lecseréljük a szelekciós komponenst tartalmazó tápfolyadékot, így eltávolítjuk az elpusztult sejteket. Kontrollként 1 lyukban vírusos transzdukción nem átesett sejtekre is szelekciós komponenst tartalmazó tápfolyadékot teszünk, egy további lyukban pedig szelekciós komponenst nem tartalmazó tápfolyadékkal tesztelünk. A szelekciót addig alkalmazzuk, amíg a vírusos transzdukción nem átesett sejtek elpusztulnak (4-7 nap). Ezután a szelekciós komponenst a felére csökkentjük a médiumban.				
A vizsgálat eredményének rövid értékelése:					
A vizsgálatot végezte:					
A vizsgálatot ellenőrizte:					