

AAV-293-Zellen | 305127

Allgemeine Informationen

Description

Die AAV-293-Zelllinie ist eine permanente Linie, die aus primären embryonalen menschlichen Nieren gewonnen wird, die mit menschlicher Adenovirus Typ 5-DNA transformiert wurden. Die von der E1-Region des Adenovirus kodierten Gene (E1a und E1b) werden in diesen Zellen exprimiert und sind an der Transaktivierung der viralen Promotoren beteiligt, so dass diese Zellen hohe Mengen an Protein produzieren können.

AAV-293 ist von der elterlichen 293-Zelllinie abgeleitet. Durch Klonen und mehrere Testrunden wurde AAV-293 speziell für eine hohe AAV-Produktion in einem helferfreien System ausgewählt. Sie bietet mehrere Vorteile gegenüber den normalen 293-Zellen: Eine größere Zelloberfläche, was zu einer höheren Transfektion und einer besseren Ausbeute an AAV führt.

Die Vorteile sind eine abgeflachte Morphologie, eine feste Anheftung an die Kulturplatte und die ideale Eignung der Zellen für die Kultur in großem Maßstab und die AAV-Produktion. Adeno-assoziierte Viren (AAV) gehören zur Familie der Parvoviridae, einer Gruppe von Viren, die zu den kleinsten einzelsträngigen und unbehüllten DNA-Viren gehören.

Bislang sind neun verschiedene AAV-Serotypen bekannt. AAV können sowohl sich teilende als auch sich nicht teilende Zellen infizieren und in der menschlichen Wirtszelle erhalten bleiben, was die Möglichkeit eines langfristigen Gentransfers eröffnet. Rekombinantes AAV-2 ist der am häufigsten für den Gentransfer verwendete Serotyp und kann mit einem Hilfsvirus oder mit AAV-293-Zellen in hohen Titern produziert werden.

Organism Menschen

Tissue Embryonale Niere

Synonyms AAV293

Merkmale

Age Fötus

Gender Weiblich

Morphology Epithelial

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation AAV-293 (Cytion Katalognummer 305127)

AAV-293-Zellen | 305127

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_6871
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Diese HEK293-abgeleitete AAV-293-Linie enthält klonale Modifikationen, die die Produktion von AAV-Vektoren unterstützen. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.
-------------------	---

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10 % FBS, 0,1 mM NEAA
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Verwerfen Sie den Überstand, resuspendieren Sie die Zellen in frischem Medium und übertragen Sie sie in neue Flaschen, die bereits frisches Medium enthalten.
---------------------	--

Split ratio	1:3 bis 1:5
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.
----------------------	---

AAV-293-Zellen | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

AAV-293-Zellen | 305127

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.