

Células AAV-293 | 305127**Información general****Description**

La línea celular AAV-293 es una línea permanente establecida a partir de riñón humano embrionario primario transformado con ADN de adenovirus humano de tipo 5. Los genes codificados por la región E1 del adenovirus (E1a y E1b) se expresan en estas células y participan en la transactivación de los promotores virales, lo que permite a estas células producir altos niveles de proteína.

AAV-293 se deriva de la línea celular 293 parental, a través de la clonación y múltiples rondas de pruebas, AAV-293 se selecciona específicamente para un alto nivel de producción de AAV en un sistema libre de ayudantes. Ofrece varias ventajas sobre las células 293 normales: Mayor superficie celular que resulta en una mayor transfección y mejor rendimiento de AAV.

Las ventajas son una morfología aplanada, una fijación firme a la placa de cultivo y que las células son ideales para el cultivo a gran escala y la producción de AAV. Los virus adenoasociados (AAV) pertenecen a la familia de los Parvoviridae, un grupo de virus entre los más pequeños de ADN monocatenario y sin envoltura.

Hasta la fecha se han descrito nueve serotipos diferentes de AAV. Los AAV pueden infectar tanto células en división como en reposo y pueden mantenerse en la célula huésped humana, lo que ofrece la posibilidad de transferir genes a largo plazo. El AAV-2 recombinante es el serotipo más utilizado en la transferencia de genes y puede producirse a títulos elevados con un virus auxiliar o células AAV-293.

Organism Humano

Tissue Riñón embrionario

Synonyms AAV293

Características

Age Feto

Gender Mujer

Morphology Epitelial

Growth properties Adherente

Datos reglamentarios

Citation AAV-293 (número de catálogo 305127 de Cytion)

Biosafety level 1

Células AAV-293 | 305127**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** OMG-S1: Esta línea AAV-293 derivada de HEK293 contiene modificaciones clonales que favorecen la producción de vectores AAV. Esta clasificación solo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Manejo de****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Suplementar el medio con 10% FBS, 0.1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 5 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Split ratio** 1:3 a 1:5**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células AAV-293 | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células AAV-293 | 305127

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.