

Cellules AAV-293 | 305127

Informations générales

Description

La lignée cellulaire AAV-293 est une lignée permanente établie à partir de reins humains embryonnaires primaires transformés avec de l'ADN d'adénovirus humain de type 5. Les gènes codés par la région E1 de l'adénovirus (E1a et E1b) sont exprimés dans ces cellules et participent à la transactivation des promoteurs viraux, ce qui permet à ces cellules de produire des niveaux élevés de protéines.

L'AAV-293 est dérivé de la lignée cellulaire parentale 293. Grâce au clonage et à de multiples séries de tests, l'AAV-293 est spécifiquement sélectionné pour un niveau élevé de production d'AAV dans un système sans auxiliaires. Il offre plusieurs avantages par rapport aux cellules 293 ordinaires : Une plus grande surface cellulaire qui permet une meilleure transfection et un meilleur rendement d'AAV.

Les avantages sont une morphologie aplatie, un attachement ferme à la plaque de culture, et les cellules sont idéales pour la culture à grande échelle et la production d'AAV. Le virus adéno-associé (AAV) appartient à la famille des Parvoviridae, un groupe de virus parmi les plus petits des virus à ADN monocaténaire et non enveloppé.

Neuf sérotypes différents d'AAV ont été signalés à ce jour. L'AAV peut infecter des cellules en division ou non et peut se maintenir dans la cellule hôte humaine, ce qui permet d'envisager un transfert de gènes à long terme. L'AAV-2 recombinant est le sérotype le plus couramment utilisé pour la délivrance de gènes et peut être produit à des titres élevés avec un virus auxiliaire ou des cellules AAV-293.

Organism Humain

Tissue Rein embryonnaire

Synonyms AAV293

Caractéristiques

Age Foetus

Gender Femme

Morphology Épithéliale

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation AAV-293 (numéro de catalogue Cytion 305127)

Cellules AAV-293 | 305127

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6871**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée AAV-293 dérivée de HEK293 contient des modifications clonales permettant la production de vecteurs AAV. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 0,1 mM de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 5 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** 1:3 à 1:5**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules AAV-293 | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules AAV-293 | 305127

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.