

## AAV-293-celler | 305127

## Generell informasjon

## Description

AAV-293-cellelinjen er en permanent linje som er etablert fra primære embryonale humane nyrer som er transformert med humant adenovirus type 5-DNA. Genene som kodes av E1-regionen i adenovirus (E1a og E1b) uttrykkes i disse cellene og deltar i transaktivering av virale promotorer, noe som gjør at disse cellene kan produsere høye nivåer av protein.

AAV-293 er avledet fra den parentale 293-cellelinjen, og gjennom kloning og flere testrunder er AAV-293 spesifikt selektert for et høyt nivå av AAV-produksjon i et hjelperfritt system. Den har flere fordeler i forhold til de vanlige 293-cellene: Større celleoverflate gir høyere transfeksjon og bedre utbytte av AAV.

Fordelene er en flatere morfologi, godt feste til dyrkingsplaten, og cellene er ideelle for storskala dyrking og AAV-produksjon. Adenoassosierte virus (AAV) tilhører familien Parvoviridae, en gruppe virus som er blant de minste av de enkelttrådede og ikke-hylstrede DNA-virusene.

Det er hittil rapportert om ni forskjellige AAV-serotyper. AAV kan infisere både celler som deler seg og celler som ikke deler seg, og kan opprettholdes i den menneskelige vertscellen, noe som gir mulighet for langsiktig genoverføring. Rekombinant AAV-2 er den vanligste serotypen som brukes til genoverføring, og den kan produseres i høye titere med et hjelpevirus eller AAV-293-celler.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Embryonal nyre

**Synonyms** AAV293

## Kjennetegn

**Age** Foster

**Gender** Kvinne

**Morphology** Epitelial

**Growth properties** Vedhengende

## Regulatoriske data

**Citation** AAV-293 (Cytion katalognummer 305127)

**Biosafety level** 1

## AAV-293-celler | 305127

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_6871**GMO Status** GMO-S1: Denne HEK293-avlede AAV-293-linjen inneholder klonale modifikasjoner som støtter AAV-vektorproduksjon. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 5 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1:3 til 1:5**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundersert stress.

## AAV-293-celler | 305127

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## AAV-293-celler | 305127

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.