

**Células AAV-293 | 305127****Informações gerais****Description**

A linha celular AAV-293 é uma linha permanente estabelecida a partir de rim humano embrionário primário transformado com ADN de adenovírus humano tipo 5. Os genes codificados pela região E1 do adenovírus (E1a e E1b) são expressos nestas células e participam na transactivação dos promotores virais, permitindo que estas células produzam níveis elevados de proteínas.

O AAV-293 é derivado da linha celular parental 293. Através da clonagem e de várias rondas de testes, o AAV-293 é especificamente selecionado para um elevado nível de produção de AAV num sistema sem auxiliares. Oferece várias vantagens em relação às células 293 normais: Maior área de superfície celular, resultando em maior transfecção e melhor rendimento de AAV.

As vantagens são uma morfologia achatada, uma fixação firme à placa de cultura e o facto de as células serem ideais para a cultura em grande escala e a produção de AAV. O vírus adeno-associado (AAV) pertence à família dos Parvoviridae, um grupo de vírus entre os mais pequenos dos vírus de ADN de cadeia simples e sem envelope.

Até à data, foram registados nove serótipos diferentes de AAV. Os AAV podem infectar tanto células em divisão como células que não se dividem e podem ser mantidos na célula hospedeira humana, criando o potencial para a transferência de genes a longo prazo. O AAV-2 recombinante é o serótipo mais comum utilizado na entrega de genes e pode ser produzido em títulos elevados com um vírus auxiliar ou células AAV-293.

**Organism** Humano

**Tissue** Rim embrionário

**Synonyms** AAV293

**Caraterísticas**

**Age** Feto

**Gender** Feminino

**Morphology** Epitelial

**Growth properties** Aderente

**Dados regulamentares**

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

**Células AAV-293 | 305127****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_6871**GMO Status** GMO-S1: Esta linha AAV-293 derivada de HEK293 contém modificações clonais que apoiam a produção do vetor AAV. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Suplementar o meio com 10% de FBS, 0,1 mM de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 5 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:3 a 1:5**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células AAV-293 | 305127

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células AAV-293 | 305127

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.