

**Bunky AAV-293 | 305127****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia AAV-293 je trvalá línia vytvorená z primárnych embryonálnych ľudských obličiek transformovaných DNA ľudského adenovírusu typu 5. Gény kódované oblasťou E1 adenovírusu (E1a a E1b) sú v týchto bunkách exprimované a podieľajú sa na transaktivácii vírusových promótorov, čo umožňuje týmto bunkám produkovať vysoké hladiny proteínov.

AAV-293 je odvodený od rodičovskej bunkovej línie 293. Prostredníctvom klonovania a viacerých kôl testovania je AAV-293 špeciálne vybraný na vysokú úroveň produkcie AAV v systéme bez pomocníkov. V porovnaní s bežnými bunkami 293 ponúka niekoľko výhod: Väčší povrch buniek, čo vedie k vyššej transfekcii a lepšiemu výťažku AAV.

Výhodou je sploštená morfológia, pevné prichytenie ku kultivačnej platni a bunky sú ideálne na veľkoplošné kultivácie a produkciu AAV. Adeno-asociovaný vírus (AAV) patrí do čeľade Parvoviridae, skupiny vírusov, ktoré patria medzi najmenšie jednovláknové a nebalené DNA vírusy.

Doteraz bolo zaznamenaných deväť rôznych sérotypov AAV. AAV môže infikovať deliace sa aj nedeliace sa bunky a môže sa udržiavať v ľudskej hostiteľskej bunke, čo vytvára potenciál na dlhodobý prenos génov. Rekombinantný AAV-2 je najbežnejším sérotypom používaným na prenos génov a môže byť produkovaný vo vysokých titroch s pomocným vírusom alebo bunkami AAV-293.

**Organism**      Ľudské**Tissue**              Embryonálna oblička**Synonyms**        AAV293**Charakteristika****Age**                      Plod**Gender**                Ženy**Morphology**        Epitelové**Growth properties**      Adherent**Regulačné údaje****Citation**              AAV-293 (katalógové číslo Cytion 305127)**Biosafety level**        1

**Bunky AAV-293 | 305127****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_6871**GMO Status** GMO-S1: Táto línia AAV-293 odvozená od HEK293 obsahuje klonálne modifikácie podporujúce produkciu vektora AAV. Táto klasifikácia sa uplatňuje len v Nemecku a inde sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS, 0,1 mM NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 5 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky AAV-293 | 305127

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky AAV-293 | 305127

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.