

## Клітини AAV-293 | 305127

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія AAV-293 - це постійна лінія, створена з первинних ембріональних клітин нирки людини, трансформованих ДНК аденовірусу людини типу 5. Гени, що кодуються областю E1 аденовірусу (E1a і E1b), експресуються в цих клітинах і беруть участь у трансактивації вірусних промоторів, що дозволяє цим клітинам виробляти високий рівень білка.

AAV-293 отримано з батьківської клітинної лінії 293 шляхом клонування та численних раундів тестування, AAV-293 був спеціально відібраний для забезпечення високого рівня виробництва AAV в безхелперній системі. Вона має кілька переваг над звичайними 293 клітинами: Більша площа поверхні клітин, що забезпечує вищу трансфекцію і кращий вихід AAV.

Перевагами також є сплющена морфологія, міцне прикріплення до планшету, і клітини ідеально підходять для великомасштабного культивування та виробництва AAV. Аденоасоційований вірус (AAV) належить до родини Parvoviridae, групи вірусів, що належить до найменших серед одноланцюгових ДНК-вірусів без оболонки.

На сьогоднішній день відомо дев'ять різних серотипів AAV. AAV може інфікувати як клітини, що діляться, так і клітини, що не діляться, і може підтримуватися в клітині-хазяїні людини, створюючи потенціал для довготривалого перенесення генів. Рекombінантний AAV-2 є найпоширенішим серотипом, що використовується для доставки генів, і може вироблятися у високих титрах за допомогою вірусу-хелпера або клітин AAV-293.

**Organism** Людина

**Tissue** Ембріональна нирка

**Synonyms** AAV293

## Характеристики

**Age** Плід

**Gender** Жінка

**Morphology** Епітеліальний

**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

**Citation** AAV-293 (номер за каталогом Cytion 305127)

## Клітини AAV-293 | 305127

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_6871**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія AAV-293, що походить від HEK293, містить клональні модифікації, що підтримують виробництво векторів AAV. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.**Біомолекулярні дані****Обробка****Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 0,1 мМ NEAA**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Дайте клітинам інкубуватися при кімнатній температурі протягом 5 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## Клітини AAV-293 | 305127

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини AAV-293 | 305127

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.