Product sheet

Cellules AAV-293 | 305127

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire AAV-293 est une lignée permanente établie à partir de cellules rénales embryonnaires humaines primaires transformées par l'ADN de l'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 dérivée de la lignée cellulaire parentale 293; grâce au clonage et à de multiples séries d'essais, l'AAV-293 a été spécifiquement sélectionnée pour sa capacité à produire des niveaux élevés d'AAV dans un système sans cellule auxiliaire. Elle offre plusieurs avantages par rapport aux cellules 293 standard : une plus grande surface cellulaire, ce qui se traduit par une transfection plus efficace et un meilleur rendement en AAV. Ces cellules présentent une morphologie aplatie, une adhérence solide à la plaque de culture et 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 comptant parmi les plus petits virus à ADN simple brin et non enveloppés. À ce jour, neuf sérotypes différents d'AAV ont été répertoriés. L'AAV peut infecter aussi bien les cellules en division que celles qui ne se divisent pas et peut être maintenu dans la cellule hôte humaine, ce qui offre la possibilité d'un transfert génique à long terme. L'AAV-2 recombinant est le sérotype le plus couramment utilisé pour l'administration de gènes, et il peut être produit à des titres élevés à l'aide d'un virus auxiliaire ou de cellules AAV-293.
Organism	Humain
Tissue	Rein embryonnaire
Synonyms	AAV293

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Femme
Morphology	Épithélial
Growth properties	Adepte

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	GMO-S1 : Cette lignée AAV-293 dérivée de la lignée HEK293 comporte des modifications clonales permettant la production de vecteurs AAV. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 0,1 mM de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 5 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules AAV-293 | 305127

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

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

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.