

HEK293 EBNA-celler | 300264**Generel information****Description**

HEK293 EBNA-cellelinjen er et derivat af den oprindelige HEK293-linje, som i sig selv stammer fra humane embryonale nyreceller dyrket i vævskultur. Denne særlige sublinje blev konstrueret til stabilt at udtrykke Epstein-Barr-virus nukleare antigen-1 (EBNA-1). Udtrykket af EBNA-1 muliggør episomal replikation af plasmider, der bærer EBV's replikationsoprindelse, hvilket gør HEK293 EBNA-celler særligt værdifulde til produktion af rekombinante proteiner og til genekspressionsundersøgelser, der involverer episomale vektorer.

HEK293 EBNA-celler bevarer mange af egenskaberne ved de oprindelige HEK293-celler, herunder deres vedhæftning til cellekulturplast og deres robuste vækst i standard pattedyrscellekulturmedier. Tilføjelsen af EBNA-1 udvider deres anvendelighed i forskning og bioteknologiske applikationer, da det forbedrer cellernes evne til at udbrede plasmider med EBV-oprindelse til plasmidreplikation. Denne egenskab er afgørende for at producere stabile rekombinante proteiner med højt udbytte, hvilket er afgørende for både forskningsformål og produktion i industriel skala.

Organism Menneske**Tissue** Embryonal nyre**Synonyms** HEK293-EBNA, 293 c18, 293c18, HEK 293 c18, HEK-293 c18, HEK293-EBNA1, HEK-293-EBNA, HEK 293-EBNA, HEK 293 EBNA, HEK293EBNA, 293 EBNA, 293-EBNA1, 293-EBNA, 293/EBNA, 293EBNA, EBNA-293, EBNA293, HEK293E, HEK/EBNA, HEK-EBNA, HEK.EBNA, 293/EBNA-1, 298E**Karakteristika****Age** Foster**Gender** Kvinde**Morphology** Epitelial**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** HEK293 EBNA (Cytion katalognummer 300264)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

HEK293 EBNA-celler | 300264**CellosaurusAccession** CVCL_6974**GMO Status**

GMO-S1: Denne HEK293 EBNA-cellelinje indeholder EBV-nukleare antigensekvenser (EBNA), der muliggør episomal replikation af EBV-afledte plasmider uden frigivelse af infektiøse viruspartikler. Modifikationen er stabilt til stede i embryonale nyreafledte celler. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data**Antigen expression**

EBNA1

Viruses

Adenovirus 5 (transformant), EBV (udtrykker EBNA1)

Håndtering**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements**

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

HEK293 EBNA-celler | 300264

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HEK293 EBNA-celler | 300264

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.