

HEK293 EBNA-Zellen | 300264

Allgemeine Informationen

Description

Die Transfektion von Säugetierzellen in großem Maßstab hat sich zu einer unverzichtbaren Technologie in der wissenschaftlichen Gemeinschaft entwickelt. Sie ermöglicht die effiziente Produktion von r-Proteinen im Milligramm-zu-Gramm-Bereich innerhalb eines kurzen Zeitrahmens, nur wenige Tage nach der Klonierung von cDNAs in den geeigneten Expressionsvektor.

Unter den verschiedenen verfügbaren Zelllinien sticht die HEK293-Zelllinie, die das Epstein-Barr-Virus-Kernantigen-1 stabil exprimiert (HEK293-EBNA1 oder 293E), als die am häufigsten verwendete Zelllinie für Transfektionsexperimente im großen Maßstab hervor. Einer der entscheidenden Vorteile der Verwendung von HEK293-EBNA1-Zellen ist ihre Kompatibilität mit Expressionsvektoren, die den Epstein-Barr-Virus-Replikationsursprung (oriP) tragen, wie z. B. der pTT-Vektor.

Diese Kompatibilität führt zu einer erheblichen Verbesserung der Ausbeute an r-Proteinen um das Dreifache im Vergleich zur Verwendung eines Nicht-oriP-Vektors. Durch die Nutzung dieses Potenzials können Forscher nun eine höhere Ausbeute ihrer gewünschten r-Proteine erzielen und so ihren Forschungs- und Entwicklungszielen näher kommen.

Organism Menschen

Tissue Embryonale Niere

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

Merkmale

Age Fötus

Gender Weiblich

Morphology Epithelial

Growth properties Adhärent

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation HEK293 EBNA (Cytion Katalognummer 300264)

Biosafety level 2

HEK293 EBNA-Zellen | 300264

Expression / Mutation

Antigen expression EBNA1

Viruses Adenovirus 5 (Transformant), EBV (exprimiert EBNA1)

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 1,5 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Medium supplements Supplemente des Mediums mit 10% FBS

Passaging solution Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Freeze medium CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

HEK293 EBNA-Zellen | 300264

Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryovial nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150°C , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für die sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryovial vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie die Mischung 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Optional kann die Zentrifugation übersprungen und das restliche Einfriermedium nach 24 Stunden entfernt werden.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.