

HEK293 EBNA sejtek | 300264

Általános információk

Description

A HEK293 EBNA sejtvonala az eredeti HEK293 vonal származéka, amely maga is emberi embrionális vesesejtekből származik, amelyeket szövettanban tenyésztettek. Ezt a különleges alvonalat úgy alakították ki, hogy stabilan expresszálja az Epstein-Barr-vírus nukleáris antigén-1-et (EBNA-1). Az EBNA-1 expressziója lehetővé teszi az EBV replikációs eredetét hordozó plazmidok epizomális replikációját, így a HEK293 EBNA sejtek különösen értékesek rekombináns fehérjék előállítására és epizomális vektorokkal végzett génexpressziós vizsgálatokra.

A HEK293 EBNA sejtek megtartják a HEK293 szülő sejtek számos jellemzőjét, beleértve a sejttenyésztési műanyaghoz való tapadásukat és a standard emlős sejttenyésztési közegben való robusztus növekedésüket. Az EBNA-1 hozzáadása kibővíti a sejtek felhasználhatóságát a kutatásban és a biotechnológiai alkalmazásokban, mivel növeli a sejtek azon képességét, hogy az EBV plazmidreplikációs eredetű plazmidokat szaporítsanak. Ez a tulajdonság kritikus fontosságú a stabil, nagy hozamú rekombináns fehérjék előállításához, ami mind kutatási célokra, mind ipari méretű termeléshez elengedhetetlen.

Organism

Emberi

Tissue

Embrionális vese

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, 293EBNA, EBNA-293, EBNA293, HEK293E, HEK/EBNA, HEK-EBNA, HEK.EBNA, 293/EBNA-1

Jellemzők

Age

Magzat

Gender

Női

Morphology

Epithelialis

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

HEK293 EBNA (Cytion katalógusszám: 300264)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

HEK293 EBNA sejtek | 300264

CellosaurusAccession CVCL_6974

GMO Status

GMO-S1: Ez a HEK293 EBNA sejtvonal EBV nukleáris antigén (EBNA) szekvenciákat tartalmaz, amelyek lehetővé teszik az EBV-ből származó plazmidok episzomális replikációját anélkül, hogy fertőző vírusrészecskéket bocsátanának ki. A módosítás stabilan jelen van az embrionális vese-eredetű sejtekben. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok**Antigen expression**

EBNA1

Viruses

Adenovírus 5 (transzformáns), EBV (EBNA1-et expresszál)

A kezelése**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements**

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HEK293 EBNA sejtek | 300264**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HEK293 EBNA sejtek | 300264

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.