

Cellule HEK293 EBNA | 300264**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare HEK293 EBNA è un derivato della linea originale HEK293, a sua volta derivata da cellule renali embrionali umane coltivate in coltura tissutale. Questa particolare sotto-linea è stata ingegnerizzata per esprimere stabilmente l'antigene nucleare-1 del virus di Epstein-Barr (EBNA-1). L'espressione di EBNA-1 consente la replicazione episomale di plasmidi che portano l'origine di replicazione del virus EBV, rendendo le cellule HEK293 EBNA particolarmente preziose per la produzione di proteine ricombinanti e per gli studi di espressione genica con vettori episomali.

Le cellule HEK293 EBNA mantengono molte delle caratteristiche delle cellule parentali HEK293, tra cui l'adesione alla plastica per colture cellulari e la crescita robusta nei terreni di coltura standard per mammiferi. L'aggiunta di EBNA-1 ne espande l'utilità nella ricerca e nelle applicazioni biotecnologiche, in quanto aumenta la capacità delle cellule di propagare plasmidi con l'origine EBV della replicazione plasmidica. Questa caratteristica è fondamentale per la produzione di proteine ricombinanti stabili e ad alta resa, essenziale sia per la ricerca che per la produzione su scala industriale.

Organism Umano**Tissue** Rene embrionale**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**Caratteristiche****Age** Feto**Gender** Donna**Morphology** Epiteliale**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** HEK293 EBNA (catalogo Cytion numero 300264)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

Cellule HEK293 EBNA | 300264**CellosaurusAccession** CVCL_6974**GMO Status**

GMO-S1: questa linea cellulare HEK293 EBNA contiene sequenze dell'antigene nucleare dell'EBV (EBNA) che consentono la replicazione episomica dei plasmidi derivati dall'EBV, senza rilasciare particelle virali infettive. La modifica è presente in modo stabile nelle cellule derivate dal rene embrionale. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire in altri paesi.

Dati biomolecolari**Antigen expression**

EBNA1

Viruses

Adenovirus 5 (trasformante), EBV (esprime EBNA1)

Manipolazione**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements**

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HEK293 EBNA | 300264

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HEK293 EBNA | 300264

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

PEZ6: Kasumi-1