Product sheet

Celule HEK293 EBNA | 300264

Informații generale

Description	Linia celulară HEK293 EBNA este un derivat al liniei HEK293 originale, care la rândul ei a fost derivată din celule embrionare de rinichi uman cultivate în culturi de țesuturi. Această sublinie specială a fost modificată pentru a exprima stabil antigenul nuclear 1 al virusului Epstein-Barr (EBNA-1). Exprimarea EBNA-1 permite replicarea episomală a plasmidelor care poartă originea de replicare a EBV, ceea ce face ca celulele HEK293 EBNA să fie deosebit de valoroase pentru producerea de proteine recombinante și pentru studiile de expresie genică care implică vectori episomali. Celulele HEK293 EBNA păstrează multe dintre caracteristicile celulelor parentale HEK293, inclusiv aderența lor la plasticul de cultură celulară și creșterea lor robustă în medii standard de cultură celulară de mamifere. Adăugarea EBNA-1 le extinde utilitatea în cercetare și aplicații biotehnologice, deoarece sporește capacitatea celulelor de a propaga plasmide cu originea EBV de replicare a plasmidelor. Această caracteristică este esențială pentru producerea de proteine recombinante stabile, cu randament ridicat, ceea ce este esențial atât pentru scopuri de cercetare, cât și pentru producția la scară industrială.
Organism	Om
Tissue	Rinichi embrionar
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

Caracteristici

Age	Fetusul
Gender	Femei
Morphology	Epitelial
Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	HEK293 EBNA (număr de catalog Cytion 300264)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606

Celule HEK293 EBNA | 300264

CellosaurusAccession	CVCL_6974
GMO Status	GMO-S1: Această linie celulară HEK293 EBNA conține secvențe de antigen nuclear EBV (EBNA) care permit replicarea episomală a plasmidelor derivate din EBV, fără a elibera particule virale infecțioase. Modificarea este prezentă în mod stabil în celulele derivate din rinichi embrionari. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Antigen expression	EBNA1
Viruses	Adenovirus 5 (transformant), EBV (exprimă EBNA1)

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HEK293 EBNA | 300264

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.