

Bunky HEK293 EBNA | 300264**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HEK293 EBNA je derivátom pôvodnej línie HEK293, ktorá bola odvodená z buniek ľudských embryonálnych obličiek pestovaných v tkanivovej kultúre. Táto konkrétna sublínia bola vytvorená tak, aby stabilne exprimovala jadrový antigén-1 vírusu Epsteina-Barrovej (EBNA-1). Expresia EBNA-1 umožňuje epizomálnu replikáciu plazmidov, ktoré nesú pôvod replikácie EBV, vďaka čomu sú bunky HEK293 EBNA obzvlášť cenné na produkciu rekombinantných proteínov a na štúdie génovej expresie zahŕňajúce epizomálne vektory.

Bunky HEK293 EBNA si zachovávajú mnohé vlastnosti materských buniek HEK293 vrátane ich prílnavosti na plastové bunkové kultúry a ich robustného rastu v štandardných médiách pre bunkové kultúry cicavcov. Pridanie EBNA-1 rozširuje ich využiteľnosť vo výskume a biotechnologických aplikáciách, pretože zvyšuje schopnosť buniek rozmnožovať plazmidy s pôvodom replikácie plazmidu EBV. Táto vlastnosť je rozhodujúca pre produkciu stabilných rekombinantných proteínov s vysokou výťažnosťou, čo je nevyhnutné na výskumné účely aj priemyselnú výrobu.

Organism Ľudské**Tissue** Embryonálna oblička**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**Charakteristika****Age** Plod**Gender** Ženy**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HEK293 EBNA (katalógové číslo Cytion 300264)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

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

GMO-S1: Táto bunková línia HEK293 EBNA obsahuje sekvencie jadrového antigénu EBV (EBNA), ktoré umožňujú epizomálnu replikáciu plazmídov odvodených od EBV bez uvoľňovania infekčných vírusových častíc. Modifikácia je stabilne prítomná v bunkách odvodených z embryonálnych obličiek. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje**Antigen expression**

EBNA1

Viruses

Adenovírus 5 (transformant), EBV (exprimuje EBNA1)

Spracovanie**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements**

Doplňte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HEK293 EBNA | 300264

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.