Product sheet

Cellules HEK293 EBNA | 300264

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire HEK293 EBNA est une dérivée de la lignée HEK293 originale, elle-même issue de cellules rénales embryonnaires humaines cultivées in vitro. Cette sous-lignée particulière a été modifiée génétiquement pour exprimer de manière stable l'antigène nucléaire 1 du virus d'Epstein-Barr (EBNA-1). L'expression de l'EBNA-1 permet la réplication épisomale des plasmides portant l'origine de réplication de l'EBV, ce qui rend les cellules HEK293 EBNA particulièrement utiles pour la production de protéines recombinantes et pour les études d'expression génique impliquant des vecteurs épisomaux. Les cellules HEK293 EBNA conservent bon nombre des caractéristiques des cellules HEK293 d'origine, notamment leur adhérence au plastique de culture cellulaire et leur croissance vigoureuse dans des milieux de culture standard pour cellules mammifères. L'ajout de l'EBNA-1 élargit leur champ d'application dans la recherche et les applications biotechnologiques, car il renforce la capacité des cellules à propager des plasmides comportant l'origine de réplication plasmidique de l'EBV. Cette caractéristique est cruciale pour la production de protéines recombinantes stables et à haut rendement, ce qui est essentiel tant à des fins de recherche que pour la production à l'échelle industrielle.
Organism	Humain
Tissue	Rein embryonnaire
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

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Femme
Morphology	Épithélial
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	EBNA HEK293 (numéro de catalogue Cytion 300264)
Biosafety level	2

Cellules HEK293 EBNA | 300264

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6974
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire HEK293 EBNA contient des séquences de l'antigène nucléaire de l'EBV (EBNA) permettant la réplication épisomale de plasmides dérivés de l'EBV, sans libération de particules virales infectieuses. Cette modification est présente de manière stable dans les cellules dérivées de rein embryonnaire. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Antigen expression	EBNA1
Viruses	Adénovirus 5 (transformant), EBV (exprimant l'EBNA1)

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules HEK293 EBNA | 300264

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.