

Клетки HEK293 EBNA | 300264

Обща информация

Description

Клетъчната линия HEK293 EBNA е производна на оригиналната линия HEK293, която е получена от човешки ембрионални бъбречни клетки, отглеждани в тъканна култура. Тази конкретна подлиния е разработена така, че да експресира стабилно ядрения антиген-1 на вируса на Епщайн-Барр (EBNA-1). Експресията на EBNA-1 позволява епизомална репликация на плазмиди, които носят произхода на репликация на EBV, което прави клетките HEK293 EBNA особено ценни за производството на рекомбинантни протеини и за изследвания на генната експресия, включващи епизомални вектори.

Клетките HEK293 EBNA запазват много от характеристиките на изходните клетки HEK293, включително прилепването им към пластмаса за клетъчни култури и стабилния им растеж в стандартни среди за клетъчни култури от бозайници. Добавянето на EBNA-1 разширява полезността им в изследователски и биотехнологични приложения, тъй като повишава способността на клетките да размножават плазмиди с произход на плазмидната репликация EBV. Тази характеристика е от решаващо значение за производството на стабилни рекомбинантни протеини с висока производителност, което е от съществено значение както за изследователски цели, така и за промишлено производство.

Organism

Човек

Tissue

Ембрионален бъбрек

Synonyms

HEK293-EBNA, 293 c18, 293c18, HEK 293 c18, HEK-293 c18, HEK293-EBNA1, HEK-293-EBNA, 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

Характеристики

Age

Плод

Gender

Жена

Morphology

Епителиален

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation

HEK293 EBNA (каталожен номер 300264 на Cytion)

Biosafety level

2

Клетки HEK293 EBNA | 300264**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6974**GMO Status** GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293 EBNA съдържа последователности на ядрен антиген на ЕБВ (EBNA), които позволяват епизомна репликация на плазмиди, произхождащи от ЕБВ, без да се освобождават инфекциозни вирусни частици. Модификацията е стабилно присъстваща в клетки, произхождащи от ембрионални бъбреци. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.**Биомолекулярни данни****Antigen expression** EBNA1**Viruses** Аденовирус 5 (трансформиран), EBV (експресира EBNA1)**Работа с****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HEK293 EBNA | 300264

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEK293 EBNA | 300264

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.