

HEK293 EBNA-solut | 300264

Yleisiä tietoja

Description

HEK293 EBNA-solulinja on johdannainen alkuperäisestä HEK293-solulinjasta, joka puolestaan on peräisin kudosviljelyssä kasvatetuista ihmisen alkion munuaissoluista. Tämä erityinen alalinja on kehitetty ilmentämään vakaasti Epstein-Barr-viruksen ydinantigeenia-1 (EBNA-1). EBNA-1:n ilmentyminen mahdollistaa EBV:n replikaatioperustan sisältävien plasmidiin episomaalisen replikaation, minkä vuoksi HEK293 EBNA-solut ovat erityisen arvokkaita rekombinanttiproteiinien tuotannossa ja episomaalisia vektoreita käyttävissä geeniekspressiotutkimuksissa.

HEK293 EBNA-solut säilyttävät monet kanta-HEK293-solujen ominaisuuksista, mukaan lukien niiden tarttuvuus soluviljelymuoviin ja niiden vankka kasvu tavanomaisissa nisäkässoluviljelyaineissa. EBNA-1:n lisääminen laajentaa niiden käyttökelpoisuutta tutkimuksessa ja bioteknologisissa sovelluksissa, koska se parantaa solujen kykyä levittää plasmideja, joissa on EBV:n plasmidiin replikaatioperusta. Tämä ominaisuus on ratkaisevan tärkeä vakaiden ja tuottavien rekombinanttiproteiinien tuottamisessa, mikä on välttämätöntä sekä tutkimustarkoituksiin että teollisen mittakaavan tuotannossa.

Organism

Ihminen

Tissue

Alkion munuaainen

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

Ominaisuudet

Age

Sikiö

Gender

Nainen

Morphology

Epiteeli

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

HEK293 EBNA (Cytionin luettelonumero 300264)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

HEK293 EBNA-solut | 300264

CellosaurusAccession CVCL_6974

GMO Status

GMO-S1: Tämä HEK293 EBNA-solulinja sisältää EBV-ydinantigeenin (EBNA) sekvenssejä, jotka mahdollistavat EBV-peräisten plasmidiin episomaalisen replikaation ilman tarttuvien viruspartikkelien vapautumista. Muutos on stabiilisti läsnä alkion munuaisista peräisin olevissa soluissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja muualla se voi olla erilainen.

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression

EBNA1

Viruses

Adenovirus 5 (transformantti), EBV (ilmentää EBNA1:tä)

Käsittely

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HEK293 EBNA-solut | 300264

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEK293 EBNA-solut | 300264

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.