

HEK293 EBNA šūnas | 300264

Vispārīga informācija

Description

HEK293 EBNA šūnu līnija ir atvasinājums oriģinālajai HEK293 līnijai, kas pati tika iegūta no cilvēka embrionālajām nieru šūnām, kuras audzē audu kultūrā. Šī konkrētā apakšlīnija tika izstrādāta, lai stabili ekspresētu Epšteina-Barra vīrusa kodola antigēnu-1 (EBNA-1). EBNA-1 ekspresija ļauj epizomāli replicēt plazmīdas, kurās ir EBV replikācijas sākums, tāpēc HEK293 EBNA šūnas ir īpaši vērtīgas rekombinantu proteīnu ražošanai un gēnu ekspresijas pētījumiem, kuros izmanto epizomālus vektorus.

HEK293 EBNA šūnas saglabā daudzas no HEK293 šūnām raksturīgajām īpašībām, tostarp to pielipšanu pie šūnu kultūru plastmasas un stabilu augšanu standarta zīdītāju šūnu kultūru barotnēs. EBNA-1 pievienošana paplašina to pielietojumu pētniecībā un biotehnoloģijās, jo tā uzlabo šūnu spēju pavairot plazmīdas ar EBV plazmīdu replikācijas sākumpunktu. Šī īpašība ir ļoti svarīga, lai iegūtu stabilus, augstas ražības rekombinantus proteīnus, kas ir būtiski gan pētniecības mērķiem, gan rūpnieciskai ražošanai.

Organism

Cilvēks

Tissue

Embrionālā niere

Synonyms

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

Raksturojums

Age

Auglis

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

HEK293 EBNA (Cytion kataloga numurs 300264)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_6974

HEK293 EBNA šūnas | 300264

GMO Status

GMO-S1: Šī HEK293 EBNA šūnu līnija satur EBV kodola antigēna (EBNA) sekvenču, kas ļauj EBV izcelsmes plazmīdu episomālo replikāciju, neizdalot infekciozas vīrusa daļiņas. Modifikācija ir stabili klātesoša embrija nieru izcelsmes šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Antigen expression

EBNA1

Viruses

Adenovīruss 5 (transformants), EBV (ekspresē EBNA1)

Darbs ar

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements

Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

HEK293 EBNA šūnas | 300264

Thawing and
Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation
Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing
Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HEK293 EBNA šūnas | 300264

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.