

Celice HEK293 EBNA | 300264

Splošne informacije

Description

Celična linija HEK293 EBNA je izpeljanka prvotne linije HEK293, ki je bila pridobljena iz celic človeških embrionalnih ledvic, gojenih v tkivni kulturi. Ta posebna podlinija je bila zasnovana tako, da stabilno izraža jedrni antigen-1 virusa Epstein-Barr (EBNA-1). Izražanje EBNA-1 omogoča epizomalno replikacijo plazmidov, ki nosijo izvor replikacije EBV, zaradi česar so celice HEK293 EBNA še posebej dragocene za proizvodnjo rekombinantnih beljakovin in študije izražanja genov, ki vključujejo epizomalne vektorje.

Celice HEK293 EBNA ohranijo številne značilnosti matičnih celic HEK293, vključno z njihovo oprijemljivostjo na plastične celične kulture in robustno rastjo v standardnih medijih za celične kulture sesalcev. Dodatek EBNA-1 povečuje njihovo uporabnost v raziskavah in biotehnoloških aplikacijah, saj povečuje sposobnost celic za razmnoževanje plazmidov z izvorom replikacije plazmidov EBV. Ta lastnost je ključna za proizvodnjo stabilnih in visoko donosnih rekombinantnih beljakovin, kar je bistveno tako za raziskovalne namene kot za industrijsko proizvodnjo.

Organism

Človek

Tissue

Embrionalna ledvica

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

Značilnosti

Age

Plod

Gender

Ženske

Morphology

Epitelijski

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

HEK293 EBNA (kataloška številka Cytion 300264)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

Celice HEK293 EBNA | 300264

CellosaurusAccession CVCL_6974

GMO Status

GMO-S1: Ta celična linija HEK293 EBNA vsebuje zaporedja jedrskega antigena EBV (EBNA), ki omogočajo epizomalno replikacijo plazmidov, pridobljenih iz EBV, brez sproščanja okužnih virusnih delcev. Modifikacija je stabilno prisotna v celicah, pridobljenih iz embrionalnih ledvic. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko druge razlikuje.

Biomolekularni podatki

Antigen expression

EBNA1

Viruses

Adenovirus 5 (transformant), EBV (izraža EBNA1)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice HEK293 EBNA | 300264

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice HEK293 EBNA | 300264

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.