

Células HEK293FT | 305275**Informações gerais****Description**

A linha celular HEK293FT é um derivado da linha celular HEK293, originalmente derivada de células renais embrionárias humanas. A designação "FT" indica que estas células foram transfectadas com o gene do antígeno T grande do SV40, o que aumenta a sua capacidade de replicar vectores plasmídicos que contêm a origem de replicação do SV40. Esta modificação torna as células 293FT particularmente úteis para a produção de elevada eficiência de vectores virais, como lentivírus e adenovírus, e para estudos de transfecção em investigação de biologia molecular e terapia genética.

As células HEK293FT apresentam uma morfologia epitelial e crescem rapidamente em cultura, proporcionando um sistema robusto e fiável para a produção de stocks virais de elevado título. Mantêm muitas das características das células HEK293 parentais, incluindo uma elevada eficiência de transfecção e a capacidade de suportar a replicação de vírus recombinantes. Os investigadores utilizam as células 293FT para produzir vectores virais para entrega de genes, para estudar a função e a regulação dos genes e para desenvolver terapias genéticas para várias doenças. O seu papel na produção de vectores virais faz das células 293FT uma pedra angular nos domínios da terapia genética, da genómica funcional e da clonagem molecular, facilitando o avanço da investigação e do desenvolvimento terapêutico.

Organism

Humano

Tissue

Rim fetal

Synonyms

HEK293-FT, HEK-293FT, HEK 293FT, HEK-293-FT, HEK293FT, 293-FT, FT-293

Caraterísticas**Age**

Feto

Gender

Feminino

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

HEK293FT (número de catálogo Cytion 305275)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Células HEK293FT | 305275**CellosaurusAccession** CVCL_6911**GMO Status**

GMO-S1: Esta linha celular derivada de HEK293 (293-FT) contém um plasmídeo de expressão do SV40 com seleção por neomicina, o que favorece uma maior proliferação e uma maior eficiência de transfecção. A construção proporciona uma expressão estável do SV40. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares**Antigen expression**

Antigénio T grande do SV40, região inicial 1A (E1A) do adenovírus

Viruses

Transformante: Adenovírus 5, vírus símio 40 (SV40)

Manuseamento**Culture Medium**

DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements

Completar o meio com 10% de FBS.

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density

2 a 5 x 10⁴ células/cm²

Fluid renewal

2 vezes por semana

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HEK293FT | 305275**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HEK293FT | 305275

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.