

Células HEK293T | 300189**Informações gerais****Description**

A HEK 293T, um derivado altamente transfectável da célula parental HEK 293, destaca-se como uma ferramenta versátil e poderosa no domínio da biotecnologia para a produção de proteínas recombinantes e vários tipos de vacinas.

As células HEK-293T foram geradas através da transfecção de células 293 de rim embrionário com um plasmídeo que codifica o antígeno SV40 large T. A linha celular HEK293 original foi desenvolvida a partir de células epiteliais de tecido renal embrionário humano, tendo a sua transformação ocorrido no que foi, nomeadamente, a 293ª experiência realizada pelos investigadores.

No domínio do desenvolvimento de vacinas, as células renais embrionárias 293T são essenciais para a produção de vectores virais, incluindo os vectores de adenovírus. As células HEK293T, em condições de cultura específicas, são transfectadas com vectores que transportam elementos adenovirais e retrovirais, incluindo a origem de replicação SV40, levando à produção de partículas semelhantes a vírus (VLPs).

As VLPs, desprovidas de material genético viral, são fundamentais para formar a base de vacinas baseadas em subunidades e VLPs. A produção de proteínas recombinantes em células 293T é facilitada por vários métodos de transfecção, com ênfase na geração de proteínas de fusão AP e outros tipos de proteínas que formam o componente antigénico das vacinas.

As capacidades de engenharia do genoma da linha celular 293T permitem a personalização de construções de expressão, aumentando ainda mais a produção de vectores virais. Isto, juntamente com a capacidade de produzir proteínas em cultura em suspensão ou em condições aderentes, faz da linha celular 293T uma solução completa para o desenvolvimento de vacinas modernas.

Organism

Humano

Tissue

Rim

Applications

Desenvolvimento de vacinas

Synonyms

Hek293T, HEK-293T, HEK 293T, HEK-293-T, HEK 293 T, 293-T, 293 T, 293T, Rim Embrionário Humano 293T, 293tsA1609neo

Caraterísticas**Age**

Feto

Gender

Feminino

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Células HEK293T | 300189

Dados regulamentares

Citation	HEK293T (número de catálogo Cytion 300189)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0063
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular HEK293T contém o SV40, o que permite uma expressão elevada dos plasmídeos transfectados e um empacotamento viral eficiente. A construção está integrada em células renais embrionárias humanas. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Vitronectina
Protein expression	CEA negativo, p53 positivo
Tumorigenic	Em ratinhos nus

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO ₃ , com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 horas

Células HEK293T | 300189

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	1×10^4 células/cm ² produzirá uma camada confluenta em cerca de 4 dias
Fluid renewal	2 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm ² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.
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 HEK293T | 300189**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% CO_2 , 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 HEK293T | 300189

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.