Product sheet

Células HEK293 | 300192

Informações gerais

Description	A linha de células HEK293, uma linha de células epiteliais imortalizadas derivada de células renais embrionárias humanas na década de 1970 por Alex van der Eb na Universidade de Utrecht, tornou-se um modelo experimental fundamental em biologia molecular e aplicações biotecnológicas devido à sua notável versatilidade e facilidade de manipulação genética. A transformação da linha celular HEK293 envolveu a integração de um segmento específico do ADN do adenovírus 5, incorporando os genes adenovirais E1A e E1B no genoma celular. A modificação do ADN adenoviral permitiu a capacidade das linhas celulares para absorver eficazmente o ADN estranho, uma caraterística conhecida como elevada eficiência de transfecção. A integração do ADN viral no genoma da célula HEK293 resultou na imortalização celular e aumentou significativamente a utilidade destas células em aplicações biotecnológicas, facilitando a incorporação e expressão estáveis de ADN exógeno, um processo denominado transfecção estável. Esta capacidade permite a presença e a função persistentes de genes estranhos nas células, tornando a HEK293 uma ferramenta inestimável para estudos genéticos e biotecnológicos. Consequentemente, as células HEK293 tornaram-se um recurso fundamental em biotecnologia para a produção de proteínas recombinantes, incluindo proteínas terapêuticas vitais, e servindo como células hospedeiras robustas para a geração de vectores virais, particularmente vectores adenovirais e lentivirais. As células HEK 293 são essenciais na indústria farmacêutica para ensaios de rastreio de elevado rendimento, para o fabrico de terapias genéticas que visam genes específicos relacionados com perturbações de um único gene e para estudos de infeção adenoviral. Na biotecnologia industrial, a utilidade da linha celular humana HEK293 estende-se à produção de enzimas recombinantes, à produção de vectores virais, como os vectores adenovirais, à produção de proteínas e ao desenvolvimento de biossensores. A investigação toxicológica beneficia da aplicação da linha celular HEK na avaliação dos impactos dos produtos químicos na biologia celular, incluindo os efeitos nas células renais típicas e o potencial para terapias genéticas. A capacidade da linha celular imortal HEK293 para produzir eficientemente proteínas nativas realça o seu papel essencial na investigação médica, incluindo a investigação do cancro e a exploração das bases da terapia genética. As células HEK293 oferecem uma plataforma única para o estudo da biologia celular e das proteínas de interesse, ultrapassando outras linhas celulares em termos de versatilidade e utilidade, tanto na investigação como em aplicações industriais. Em comparação, as células HEK293T, uma variante das HEK293, são modificadas para aumentar a eficiência da transfecção, as células HEK293F são adaptadas para cultura em suspensão para facilitar a produção de proteínas em grande escala e outras linhas celulares de mamíferos, como as células Vero, derivadas de tecido renal de macaco, são utilizadas principalmente no desenvolvimento de vacinas e em estudos virais.
Organism	Humano
Tissue	Rim
Applications	Hospedeiro de transfecção
Synonyms	Hek293, HEK-293, HEK/293, HEK 293, HEK,293, 293, 293 HEK, 293 Ad5, Rim Embrionário Humano 293

Product sheet

Células HEK293 | 300192

Caraterísticas

Age	Feto
Gender	Feminino
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Monocamada, aderente

Dados regulamentares

Citation	HEK293 (número de catálogo Cytion 300192)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0045
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular derivada de rim embrionário HEK293 contém sequências de adenovírus-5 E1A/E1B devido à transformação, mas não liberta vírus infecciosos, permitindo uma elevada capacidade proliferativa. A modificação está presente de forma estável nas células renais embrionárias. 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
Virus susceptibility	Transformado com ADN do adenovírus 5 ADN do adenovírus 5
Ploidy status	30% das células HEK293 têm cariótipos hipotriplóides com 64 cromossomas modais. Foram encontradas ploidias superiores em 4,2% das células.

Células HEK293 | 300192

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
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 confluente 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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HEK293 | 300192

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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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.

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.
Alelos HLA	**A***: '03:01:01 **B***: '07:02:01 **C***: '07:02:01 **DRB1***: '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01 **DQB1***: '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01 **E**: '01:03:02