Product sheet

Células HEK293T | 300189

Informações gerais

Description	A HEK 293T, uma variante altamente transfectável da célula parental HEK 293, destaca-se como uma ferramenta versátil e poderosa no campo da biotecnologia para a produção de proteínas recombinantes e diversos tipos de vacinas. As células HEK-293T foram geradas por meio da transfecção de células renais embrionárias 293 com um plasmídeo que codifica o antígeno T grande do SV40. A linhagem celular HEK-293 original foi desenvolvida a partir de células epiteliais de tecido renal embrionário humano, tendo sua transformação ocorrido justamente na 293ª experiência realizada pelos pesquisadores. No âmbito do desenvolvimento de vacinas, as células renais embrionárias 293T são fundamentais para a produção de vetores virais, incluindo vetores adenovirais. As células HEK293T, sob condições específicas de cultura, são transfectadas com vetores que carregam elementos adenovirais e retrovirais, incluindo a origem de replicação do 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 de subunidades e baseadas em VLPs. A produção de proteínas recombinantes nas 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 antigênico das vacinas. Os recursos de engenharia genômica da linhagem celular 293T permitem a personalização de construções de expressão, impulsionando ainda mais a produção de vetores virais. Isso, aliado à capacidade de produzir proteínas em cultura em suspensão ou em condições de aderência, torna a linhagem 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

Características

Age	Feto
Gender	Mulher
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Aderente

Células HEK293T | 300189

Dados regulatórios

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

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Vitronectina
Protein expression	CEA negativo, p53 positivo
Tumorigenic	Em camundongos nude

Manuseio

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 horas

Células HEK293T | 300189

Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	1×10^4 células/cm^2 formará uma camada confluente em cerca de 4 dias
Fluid renewal	2 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm^2 e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente. 6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual. 7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes. 8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células HEK293T | 300189

Sterility	A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.