

Células HEK293-F | 300260

Informações gerais

Description

As células HEK293-F são uma sub-linha de crescimento rápido e altamente transfectável derivada da linha de células 293 do rim embrionário humano (HEK293). A designação "F" indica que estas células foram adaptadas para crescimento em culturas em suspensão, o que as torna particularmente úteis para a produção de proteínas em grande escala. As células crescem numa variedade de meios sem soro, facilitando processos escaláveis em aplicações biotecnológicas e farmacêuticas. As células HEK293-F mantêm a morfologia epitelial da linha HEK293 original e são mantidas em suspensão sem a necessidade de fixação a um substrato sólido.

Estas células são altamente eficientes na expressão de proteínas recombinantes e são amplamente utilizadas na produção de vectores virais para terapia genética, incluindo vectores adenovirais, lentivirais e retrovirais. O seu crescimento robusto em suspensão e a facilidade de transfecção tornam-nos ideais para utilização em protocolos de transfecção transiente, onde podem produzir elevados rendimentos de proteínas em poucos dias após a transfecção. Esta característica é fundamental para ciclos de produção rápidos em ambientes de investigação e industriais. A adaptabilidade das células HEK293-F a várias condições de crescimento e a sua capacidade de cultura de alta densidade aumentam a sua utilidade em ambientes de bioprocessamento.

Organism

Humano

Tissue

Rim

Applications

Hospedeiro de transfecção

Synonyms

HEK-293-F, HEK 293-F, HEK-293F, HEK293F, 293-F, 293 F, 293F

Caraterísticas

Age

Feto

Gender

Feminino

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Suspensão

Dados regulamentares

Citation

HEK293-F (número de catálogo Cytion 300260)

Biosafety level

1

Células HEK293-F | 300260

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6642

GMO Status GMO-S1: Esta linha celular HEK293-F contém sequências do antígeno SV40 Large T, permitindo uma elevada eficiência de transfecção e um crescimento robusto em cultura em suspensão. A modificação está presente de forma estável em 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

Viruses Transformado com ADN do adenovírus 5 ADN do adenovírus 5

Manuseamento

Culture Medium CD293 (Thermo) + L-Glutamina

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.

Split ratio Recomenda-se um rácio de 1:3 a 1:4

Células HEK293-F | 300260

Seeding density 1×10^4 células/cm² produzirá uma camada confluyente 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/cm² 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.

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.

Células HEK293-F | 300260

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

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 / Perfil genético / HLA

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 inspeções visuais diárias.