

**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 característica 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

**Células HEK293 | 300192****Caraterísticas**

<b>Age</b>	Feto
<b>Gender</b>	Feminino
<b>Morphology</b>	De tipo epitelial
<b>Growth properties</b>	Monocamada, aderente

**Dados regulamentares**

<b>Citation</b>	HEK293 (número de catálogo Cytion 300192)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0045
<b>GMO Status</b>	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**

<b>Receptors expressed</b>	Vitronectina
<b>Protein expression</b>	CEA negativo, p53 positivo
<b>Tumorigenic</b>	Em ratinhos nus
<b>Virus susceptibility</b>	Transformado com ADN do adenovírus 5 ADN do adenovírus 5
<b>Ploidy status</b>	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<sub>3</sub>, 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**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> 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  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> 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 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células HEK293 | 300192

### 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 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