

**Células HEK293 EBNA | 300264****Informações gerais****Description**

A linha celular HEK293 EBNA é um derivado da linha HEK293 original, que por sua vez foi derivada de células renais embrionárias humanas cultivadas em cultura de tecidos. Esta sub-linha específica foi concebida para expressar de forma estável o antigénio nuclear-1 do vírus Epstein-Barr (EBNA-1). A expressão do EBNA-1 permite a replicação episomal de plasmídeos que transportam a origem de replicação do EBV, o que torna as células HEK293 EBNA particularmente valiosas para a produção de proteínas recombinantes e para estudos de expressão genética que envolvam vectores episomais.

As células HEK293 EBNA mantêm muitas das características das células HEK293 originais, incluindo a sua aderência ao plástico de cultura de células e o seu crescimento robusto em meios de cultura de células de mamíferos padrão. A adição de EBNA-1 expande a sua utilidade em aplicações de investigação e biotecnológicas, uma vez que aumenta a capacidade das células para propagar plasmídeos com a origem de replicação de plasmídeos do EBV. Esta característica é fundamental para a produção de proteínas recombinantes estáveis e de elevado rendimento, o que é essencial tanto para fins de investigação como para a produção à escala industrial.

**Organism** Humano**Tissue** Rim embrionário**Synonyms** HEK293-EBNA, 293 c18, 293c18, HEK 293 c18, HEK-293 c18, HEK293-EBNA1, HEK-293-EBNA, HEK 293-EBNA, HEK 293 EBNA, HEK293EBNA, 293 EBNA, 293-EBNA1, 293-EBNA, 293/EBNA, 293EBNA, EBNA-293, EBNA293, HEK293E, HEK/EBNA, HEK-EBNA, HEK.EBNA, 293/EBNA-1, 298E**Caraterísticas****Age** Feto**Gender** Feminino**Morphology** Epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** HEK293 EBNA (número de catálogo Cytion 300264)**Biosafety level** 2

**Células HEK293 EBNA | 300264****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_6974**GMO Status** GMO-S1: Esta linha celular HEK293 EBNA contém sequências do antígeno nuclear do EBV (EBNA) que permitem a replicação episomal de plasmídeos derivados do EBV, sem liberar partículas virais infecciosas. A modificação está presente de forma estável em células derivadas de rim embrionário. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.**Dados biomoleculares****Antigen expression** EBNA1**Viruses** Adenovírus 5 (Transformante), EBV (exprime EBNA1)**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**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.**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 EBNA | 300264

### 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, 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  $300 \times g$  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 EBNA | 300264

### 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.