

Células HEK293A | 305070**Informações gerais****Description**

A linha celular HEK293A, um derivado das células 293 do rim embrionário humano (HEK293), representa uma ferramenta especializada na investigação virológica e de terapia génica, particularmente na produção, amplificação e titulação de adenovírus incompetentes para a replicação. Estas células apresentam uma morfologia plana, o que facilita significativamente o exame microscópico e os processos de titulação, tornando mais simples a contagem e a avaliação das partículas virais.

Uma característica fundamental da linha celular HEK293A é a integração estável do gene E1 do adenovírus no seu genoma. Esta integração é fundamental, uma vez que fornece a maquinaria transcricional necessária para a expressão das proteínas E1, especificamente E1a e E1b. A presença destas proteínas é essencial para a replicação dos vectores adenovirais na célula. A proteína E1a funciona principalmente para ativar a transcrição do genoma do adenovírus, enquanto as proteínas E1b estão envolvidas na replicação viral e na interrupção do ciclo celular.

A utilidade das células HEK293A vai para além do mero suporte da replicação viral. Estas células facilitam a produção eficiente de preparações virais de alto título e de alta qualidade, essenciais tanto para a investigação fundamental como para as aplicações terapêuticas. A capacidade de replicação robusta da linha celular e a facilidade de manuseamento permitem aos investigadores seleccionar e desenvolver construções adenovirais com uma precisão e eficiência sem precedentes.

Em resumo, a linha celular HEK293A é um recurso indispensável no domínio da virologia e da terapia génica. A sua capacidade de expressar de forma estável as proteínas E1 e de suportar a replicação adenoviral torna-a uma ferramenta valiosa para os investigadores que procuram produzir e manipular vectores adenovirais. As características da linha celular permitem a geração eficiente de vectores virais, cruciais para o avanço da investigação e para potenciais intervenções terapêuticas.

Organism Humano**Tissue** Rim embrionário**Synonyms** HEK-293A, HEK293A, HEK 293A, HEK293-A, QBI-HEK 293A, QBI-293A**Caraterísticas****Age** Feto**Gender** Feminino**Morphology** Epitelial**Growth properties** Aderente

Células HEK293A | 305070

Dados regulamentares

Citation	HEK293A (número de catálogo Cytion 305070)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6910
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular HEK293A contém sequências do antígeno SV40 Large T do vírus Simian 40, o que permite um melhor desempenho de transfecção e proliferação. A construção está integrada de forma estável em células renais embrionárias. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

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
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	1:3 a 1:5
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
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 HEK293A | 305070**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 $300 \times g$ 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°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.

Células HEK293A | 305070**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.

Perfil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12,12
D13S317: 12,14
D16S539: 9,13
D5S818: 8,8
D7S820: 11,12
TH01: 7,9.3
TPOX: 11,11
vWA: 16,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 28,30.2
D18S51: 17,18
Penta E: 7,15
Penta D: 9,1
D8S1179: 12,12
FGA: 23,23
D6S1043: 11,11
D2S1338: 19,19
D12S391: 19,21
D19S433: 15,18