

Células Hep-66.3A | 400206**Información general****Description**

La línea celular de hepatoma Hep-66.4A se deriva de un tumor hepático de ratón, concretamente de la cepa de ratón C57BL/6J. Esta línea celular se caracteriza por su origen hepatocítico, confirmado mediante análisis de proteínas de filamentos intermedios. Hep-66.4A expresa queratinas simples K8 y K18, que son típicas de las células hepáticas normales, así como vimentina y queratina K19 en diversos grados. Estos patrones proteicos confirman la naturaleza hepatocítica de la línea celular y su clasificación como línea de hepatoma.

La línea celular Hep-66.4A muestra una morfología predominantemente epitelial, lo que refleja su origen a partir de hepatocitos. Este fenotipo morfológico es coherente con su perfil de expresión proteica. El análisis de la huella de ADN de Hep-66.4A no reveló ninguna anomalía estructural importante, lo que indica cierto grado de estabilidad genómica. Sin embargo, se observaron algunos cambios en las intensidades relativas de bandas específicas al aumentar el número de pases, lo que sugiere una variabilidad genómica menor a lo largo de periodos de cultivo prolongados.

A pesar de la ausencia de mutaciones detectables de p53 en los tumores primarios de hígado de ratón, se encontraron aberraciones en algunas líneas de hepatoma durante la propagación in vitro. Se analizó la línea celular Hep-66.4A en busca de mutaciones en los genes p53 y c-Ha-ras. La ausencia de mutaciones detectables en el gen p53 en esta línea durante los primeros pasajes sugiere un fondo genético estable. Esta línea celular constituye un valioso modelo para el estudio del carcinoma hepatocelular y permite comprender mejor los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a la tumorigénesis hepática.

Organism	Ratón
Tissue	Hígado
Disease	Carcinoma hepatocelular
Synonyms	HEP-66.3A, 66.3A

Características

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Adultos
Gender	Mujer
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Adherente

Células Hep-66.3A | 400206**Datos reglamentarios**

Citation	Hep-66.3A (número de catálogo de Cytion 400206)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5771

Datos biomoleculares

Protein expression	Queratina 8, Queratina 18, Vimentina
Tumorigenic	Sí, en ratones B6C3F1
Mutational profile	P53 wt

Manejo de

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Complementar el medio con un 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:4 a 1:8
Fluid renewal	Cada 3 a 5 días

Células Hep-66.3A | 400206

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Para una fijación y viabilidad óptimas tras la descongelación, recomendamos utilizar **matraces o placas recubiertos de colágeno**.

Células Hep-66.3A | 400206

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

M_18-3: 16,18
M_4-2: 20,3,21,3
M_6-7: 12,17
M_3-2: 14
M_19-2: 12,13
M_7-1: 26,26.2
M_1-1: 10,16
M_8-1: 16
M_2-1: 9,15
M_15-3: 22,3,25,3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 16,20
M_17-2: 15
M_12-1: 16,17
M_5-5: 15,16
M_X-1: 28
M_13-1: 17
Human D4/D8: -