

Células Hep-66.3A | 400206**Informações gerais****Description**

A linha celular de hepatoma Hep-66.4A é derivada de um tumor hepático de rato, especificamente da estirpe de rato C57BL/6J. Esta linha celular é caracterizada pela sua origem hepatocítica, confirmada através da análise de proteínas de filamentos intermédios. A Hep-66.4A expressa as queratinas simples K8 e K18, que são típicas das células hepáticas normais, bem como a vimentina e a queratina K19 em graus variáveis. Estes padrões proteicos confirmam a natureza hepatocítica da linha celular e a sua classificação como uma linha de hepatoma.

A linha celular Hep-66.4A apresenta uma morfologia predominantemente epitelial, reflectindo a sua origem a partir de hepatócitos. Este fenótipo morfológico é consistente com o seu perfil de expressão proteica. A análise da impressão digital do ADN da Hep-66.4A não revelou quaisquer anomalias estruturais importantes, indicando um grau de estabilidade genómica. No entanto, foram observadas algumas alterações nas intensidades relativas de bandas específicas com o aumento do número de passagens, sugerindo uma pequena variabilidade genómica durante períodos de cultura prolongados.

Apesar da ausência de mutações detectáveis do p53 nos tumores primários do fígado de rato, foram encontradas aberrações em algumas linhas de hepatoma durante a propagação in vitro. A linha celular Hep-66.4A foi analisada para detetar mutações nos genes p53 e c-Ha-ras. A ausência de mutações detectáveis no gene p53 nesta linha durante as primeiras passagens sugere um fundo genético estável. Esta linha celular serve como um modelo valioso para o estudo do carcinoma hepatocelular, fornecendo informações sobre os mecanismos celulares e moleculares subjacentes à tumorigénese do fígado.

Organism

Rato

Tissue

Fígado

Disease

Carcinoma hepatocelular

Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

C57BL/6J

Age

Adulto

Gender

Feminino

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Células Hep-66.3A | 400206**Dados regulamentares****Citation** Hep-66.3A (número de catálogo Cytion 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Dados biomoleculares****Protein expression** Queratina 8, Queratina 18, Vimentina**Tumorigenic** Sim, em ratinhos B6C3F1**Mutational profile** P53 wt**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, 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.**Fluid renewal** A cada 3 a 5 dias

Células Hep-66.3A | 400206

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 $300 \times g$ 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**.

Células Hep-66.3A | 400206

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 inspecções visuais diárias.