

**Células PLC/PRF/5 | 300315****Informações gerais**

<b>Description</b>	As células produzem HBsAg. Atualmente, não há provas de que esta linha celular produza o vírus infeccioso da hepatite B.
<b>Organism</b>	Humano
<b>Disease</b>	Carcinoma hepatocelular
<b>Synonyms</b>	PLC-PRF-5, PLC PRF 5, PLC/PRF5, PLCPRF5, PLC-8024, PLC8024, PLC, células Alexander, Alexander, Primary Liver Carcinoma/Poliomyelitis Research Foundation/5

**Caraterísticas**

<b>Age</b>	24 anos
<b>Gender</b>	Masculino
<b>Ethnicity</b>	Africano
<b>Cell type</b>	Células de Alexander
<b>Growth properties</b>	Aderente

**Dados regulamentares**

<b>Citation</b>	PLC/PRF/5 (número de catálogo Cytion 300315)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0485

**Dados biomoleculares**

<b>Products</b>	Antigénio de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg)
<b>Karyotype</b>	Número médio: 56, heteroploide, com cromossomas marcadores

**Células PLC/PRF/5 | 300315****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

**Doubling time** 35 a 40 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.

**Split ratio** Recomenda-se uma proporção de 1:4

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

**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 PLC/PRF/5 | 300315

### 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 PLC/PRF/5 | 300315

### 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 inspeções visuais diárias.

### Perfil STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 10  
**D13S317:** 11,12  
**D16S539:** 13  
**D5S818:** 12  
**D7S820:** 9,11  
**TH01:** 7,8  
**TPOX:** 8  
**vWA:** 15,16  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 30,33,2  
**D18S51:** 17  
**Penta E:** 10,16  
**Penta D:** 6,1  
**D8S1179:** 13,16  
**FGA:** 19,225  
**D1S1656:** 14  
**D6S1043:** 13,21  
**D2S1338:** 19  
**D12S391:** 20  
**D19S433:** 11,13

**Células PLC/PRF/5 | 300315**

**Alelos HLA**

**A\*:** '03:01:01, '33:03:01

**B\*:** '42:02:01, '53:01:01

**C\*:** '04:01, '17:XX

**DRB1\*:** '08:04:01, '13:01:01

**DQA1\*:** '01:03:01, '04:01:02

**DQB1\*:** '03:19:01, '06:03:01

**DPB1\*:** '04:XX, '18:01

**E:** '01:01, '01:03