

Células Hep-56.1D | 400204**Informações gerais****Description**

A linha celular de hepatoma Hep-56.1D é derivada de um tumor hepático de rato, especificamente da estirpe de rato C57BL/6J. Esta linha celular é caracterizada por uma mutação notável no gene p53, identificada em diferentes passagens durante a propagação in vitro. Especificamente, a Hep-56.1D apresenta uma transverso C:G para G:C no códon 132 do exão 5, resultando numa mudança de aminoácidos da cisteína para o triptofano. Esta mutação foi detectada na passagem número 17, o que sugere uma vantagem selectiva de crescimento conferida pela mutação, levando à sua predominância na população celular.

A linha celular Hep-56.1D apresenta uma morfologia predominantemente epitelial, reflectindo a sua origem hepatocítica. Este facto é consistente com o seu perfil de proteínas de filamentos intermédios, que inclui as queratinas simples K8 e K18, bem como a vimentina e a queratina K19 em graus variáveis. A presença destas proteínas confirma a natureza hepatocítica da linha celular e a sua classificação como uma linha de hepatoma.

Uma análise mais aprofundada da Hep-56.1D utilizando a impressão digital de ADN não revelou quaisquer anomalias estruturais importantes, embora tenham sido observadas algumas alterações nas intensidades relativas de bandas específicas com o aumento do número de passagens. Isto indica estabilidade genómica com algum grau de variabilidade durante períodos de cultura prolongados. A análise da mutação do p53 e os padrões de expressão da proteína do filamento intermédio estabelecem em conjunto a Hep-56.1D como um modelo valioso para o estudo do carcinoma hepatocelular e do papel das mutações do p53 na tumorigénese hepática.

Organism

Rato

Tissue

Fígado

Disease

Carcinoma hepatocelular

Synonyms

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

C57BL/6J

Age

Adulto

Gender

Feminino

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Células Hep-56.1D | 400204**Dados regulamentares****Citation** Hep-56.1D (número de catálogo Cytion 400204)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5769**Dados biomoleculares****Protein expression** Queratina 8, Queratina 18, Vimentina.**Tumorigenic** Sim, em ratinhos C57BL/6J. Na terceira semana, desenvolver-se-ão tumores com cerca de 5-6 mm de diâmetro.**Ploidy status** Aneuploide**Mutational profile** P53mut, transversão C:G -> G:C no códon 132 do exão 5 do p53 do rato, que corresponde a uma mudança de aminoácidos da cisteína para o triptofano.**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**Doubling time** 25 a 30 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.

Células Hep-56.1D | 400204

Seeding density 1 a 2×10^4 células/cm² durante cultura de rotina

Fluid renewal A cada 3 ou 4 dias

Post-Thaw Recovery >90% das células recuperadas do processo de congelação em 24 a 48 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.

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 x 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.

Células Hep-56.1D | 400204

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, 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 °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 inspeções visuais diárias.