

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

La línea celular de hepatoma Hep-66.4A se deriva de un tumor hepático de ratón, específicamente de la cepa C57BL/6J. Esta línea celular se caracteriza por su origen hepatocítico, confirmado mediante el análisis de proteínas de filamentos intermedios. La línea Hep-66.4A expresa las queratinas simples K8 y K18, que son típicas de las células hepáticas normales, así como vimentina y queratina K19 en distintos 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 presenta una morfología predominantemente epitelial, lo que refleja su origen a partir de hepatocitos. Este fenotipo morfológico es consistente con su perfil de expresión proteica. El análisis de huellas de ADN de Hep-66.4A no reveló ninguna anomalía estructural importante, lo que indica un cierto grado de estabilidad genómica. Sin embargo, se observaron algunos cambios en las intensidades relativas de bandas específicas a medida que aumentaba el número de pases, lo que sugiere una variabilidad genómica menor durante períodos prolongados de cultivo.

A pesar de la ausencia de mutaciones detectables en el gen p53 en los tumores hepáticos primarios 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 pases sugiere un fondo genético estable. Esta línea celular sirve como un valioso modelo para estudiar el carcinoma hepatocelular, proporcionando información sobre 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	Adulto
Gender	Mujer
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Adherente

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

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

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.
Fluid renewal	Cada 3 a 5 días

Células Hep-66.3A | 400206

Freeze medium

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

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un 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 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Células Hep-66.3A | 400206

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.