

Células Hep-66.3A | 400206

Informações gerais

Description

A linhagem celular de hepatoma Hep-66.4A é derivada de um tumor hepático de camundongo, especificamente da linhagem C57BL/6J. Essa linhagem celular é caracterizada por sua origem hepatocítica, confirmada por meio da análise das proteínas dos filamentos intermediários. A Hep-66.4A expressa as queratinas simples K8 e K18, típicas das células hepáticas normais, bem como vimentina e queratina K19 em graus variáveis. Esses padrões proteicos confirmam a natureza hepatocítica da linhagem celular e sua classificação como linhagem de hepatoma.

A linhagem celular Hep-66.4A apresenta uma morfologia predominantemente epitelial, refletindo sua origem a partir de hepatócitos. Esse fenótipo morfológico é consistente com seu perfil de expressão proteica. A análise de impressão digital de DNA da Hep-66.4A não revelou nenhuma anomalia estrutural significativa, indicando um certo grau de estabilidade genômica. No entanto, foram observadas algumas alterações nas intensidades relativas de bandas específicas com o aumento do número de passagens, sugerindo uma variabilidade genômica menor ao longo de períodos prolongados de cultura.

Apesar da ausência de mutações detectáveis no gene p53 nos tumores hepáticos primários de camundongos, foram encontradas aberrações em algumas linhagens de hepatoma durante a propagação in vitro. A linhagem celular Hep-66.4A foi analisada quanto a mutações nos genes p53 e c-Ha-ras. A ausência de mutações detectáveis no gene p53 nessa linhagem durante as primeiras passagens sugere um background genético estável. Essa linhagem celular serve como um modelo valioso para o estudo do carcinoma hepatocelular, fornecendo insights sobre os mecanismos celulares e moleculares subjacentes à tumorigênese hepática.

Organism	Mouse
Tissue	Fígado
Disease	Carcinoma hepatocelular
Synonyms	HEP-66.3A, 66.3A

Características

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Adulto
Gender	Mulher
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Aderente

Células Hep-66.3A | 400206**Dados regulatórios**

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

Dados biomoleculares

Protein expression	Queratina 8, Queratina 18, Vimentina
Tumorigenic	Sim, em camundongos B6C3F1
Mutational profile	P53 wt

Manuseio

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as 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 meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células Hep-66.3A | 400206

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.