

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

A linhagem celular de hepatoma Hep-56.1D é derivada de um tumor hepático de camundongo, especificamente da linhagem C57BL/6J. Essa linhagem 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 de C:G para G:C no códon 132 do exão 5, resultando em uma substituição do aminoácido cisteína por triptofano. Essa mutação foi detectada na 17ª passagem, sugerindo uma vantagem seletiva de crescimento conferida pela mutação, levando à sua predominância na população celular.

A linhagem celular Hep-56.1D apresenta uma morfologia predominantemente epitelial, refletindo sua origem hepatocítica. Isso é consistente com seu perfil de proteínas de filamentos intermediários, que inclui as queratinas simples K8 e K18, bem como vimentina e queratina K19 em graus variáveis. A presença dessas proteínas confirma a natureza hepatocítica da linhagem celular e sua classificação como uma linhagem de hepatoma.

Uma análise mais aprofundada da Hep-56.1D por meio de impressão digital de DNA não revelou nenhuma anomalia estrutural significativa, embora tenham sido observadas algumas alterações nas intensidades relativas de bandas específicas com o aumento do número de passagens. Isso indica estabilidade genômica com algum grau de variabilidade ao longo de períodos prolongados de cultura. A análise de mutações no p53 e os padrões de expressão das proteínas dos filamentos intermediários, em conjunto, estabelecem a Hep-56.1D como um modelo valioso para o estudo do carcinoma hepatocelular e do papel das mutações no p53 na tumorigênese hepática.

Organism	Mouse
Tissue	Fígado
Disease	Carcinoma hepatocelular
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Características

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

Células Hep-56.1D | 400204**Dados regulatórios****Citation** Hep-56.1D (número de catálogo da Cytion 400204)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5769**Dados biomoleculares****Protein expression** Queratina 8, Queratina 18, Vimentina.**Tumorigenic** Sim, em camundongos C57BL/6J. Na terceira semana, surgirão tumores com aproximadamente 5 a 6 mm de diâmetro.**Ploidy status** Aneuploide**Mutational profile** P53mut, transversão C:G → G:C no códon 132 do exão 5 do p53 de camundongo, o que corresponde a uma substituição do aminoácido cisteína por triptofano.**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 NaHCO₃, 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**Doubling time** 25 a 30 horas**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.

Células Hep-56.1D | 400204

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

Fluid renewal A cada 3 ou 4 dias

Post-Thaw Recovery >90% das células se recuperaram do processo de congelamento em um período de 24 a 48 horas

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.

Células Hep-56.1D | 400204

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.