Hep-70.4

400207

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular de hepatoma Hep-70.4 é derivada de um tumor hepático de ratinho, especificamente da estirpe de ratinho C57BL/6J. Esta linha celular destaca-se pelas suas mutações no gene p53, que foram identificadas em diferentes passagens durante a propagação in vitro. Na passagem número 8, foi detectado um sinal adicional fraco na análise de polimorfismo de conformação de cadeia simples (SSCP), indicando a presença de uma mutação p53. Na passagem número 38, foram identificadas duas mutações pontuais distintas no p53: uma transversão G:C para C:G no códon 135 e uma transversão C:G para G:C no códon 138 do exon 5. Estas mutações levaram a alterações de aminoácidos de alanina para prolina e de cisteína para triptofano, respetivamente.
A linha celular Hep-70.4 apresenta um fenótipo morfológico que varia significativamente durante a sua propagação. Algumas sub-linhas exibem uma morfologia epitelial, enquanto outras apresentam um aspeto fibroblástico. Esta heterogeneidade reflecte a natureza complexa da linha celular e a sua adaptabilidade em diferentes condições de cultura. A presença de alelos p53 normais e mutados nas primeiras passagens sugere que as mutações conferem uma vantagem selectiva de crescimento, levando à predominância de clones mutados ao longo do tempo.
A análise das proteínas de filamentos intermédios da linha celular Hep-70.4 revelou a expressão das queratinas simples K8 e K18, que são típicas das células hepáticas normais, bem como da vimentina e da queratina K19 em graus variáveis. Estes padrões proteicos confirmam a origem hepatocítica da linha celular e a sua classificação como uma linha de hepatoma. A estabilidade genómica da Hep-70.4 foi ainda avaliada através da análise da impressão digital do ADN, que não revelou quaisquer anomalias estruturais importantes, embora tenham sido observadas alterações nas intensidades relativas de determinadas bandas com o aumento do número de passagens.

Tecido	Fígado
Doença	Carcinoma hepatocelular

Sinónimos

- HEP-70.4
- 70.4

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Rato
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	De tipo epitelial
Tumorigénico	Sim, em ratinhos C3H/He

IDENTIFICADORES

Referência

Hep-70.4 (número de catálogo Cytion 400207)

Número de identificação fiscal do NCBI	10090

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Cellosaurus	CVCL_5772

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Perfil mutacional

P53

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

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)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

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.

Densidade de sementeira	1 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	A cada 3 a 5 dias
Recuperação após o descongelamento	Deixar as células recuperarem durante pelo menos 24 a 48 horas.

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

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 inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

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.

Condições de envio

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.

DOADOR

Raça / subespécie	C57BL/6J
Idade do dador	Adulto

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Aviso legal

As nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de investigação laboratorial in vitro e não se destinam a utilização clínica ou de diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os utilizadores devem aderir a todas as diretrizes e regulamentos aplicáveis para o manuseamento e utilização destas células num ambiente de investigação.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes