Hep-70.4

400207

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular de hepatoma Hep-70.4 é derivada de um tumor hepático de camundongo, especificamente da linhagem C57BL/6J. Essa linhagem celular se destaca por 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 do polimorfismo de conformação de fita simples (SSCP), indicando a presença de uma mutação no p53. Na passagem número 38, foram identificadas duas mutações pontuais distintas no p53: uma transversão de G:C para C:G no códon 135 e uma transversão de C:G para G:C no códon 138 do exão 5. Essas mutações levaram a alterações de aminoácidos de alanina para prolina e de cisteína para triptofano, respectivamente.
A linhagem celular Hep-70.4 apresenta um fenótipo morfológico que varia significativamente durante sua propagação. Algumas sublinhagens exibem uma morfologia epitelial, enquanto outras apresentam uma aparência semelhante à de fibroblastos. Essa heterogeneidade reflete a natureza complexa da linhagem celular e sua adaptabilidade sob diferentes condições de cultura. A presença de alelos p53 tanto normais quanto mutantes nas primeiras passagens sugere que as mutações conferem uma vantagem seletiva de crescimento, levando à predominância de clones mutantes ao longo do tempo.
A análise das proteínas dos filamentos intermediários da linha celular Hep-70.4 revelou a expressão das queratinas simples K8 e K18, típicas das células hepáticas normais, bem como da vimentina e da queratina K19 em graus variáveis. Esses padrões proteicos confirmam a origem hepatocítica da linhagem celular e sua classificação como uma linhagem de hepatoma. A estabilidade genômica da Hep-70.4 foi avaliada adicionalmente por meio da análise de impressão digital de DNA, que não revelou nenhuma anomalia estrutural significativa, embora tenham sido observadas alterações nas intensidades relativas de certas bandas com o aumento do número de passagens.

Tissue	Fígado
Disease	Carcinoma hepatocelular

Synonyms

- HEP-70.4
- 70.4

CLASSIFICATION

Organism	Mouse
Sex	Female
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	De tipo epitelial
Tumourigenic	Sim, em camundongos C3H/He

IDENTIFIERS

Citation

Hep-70.4 (número de catálogo da Cytion 400207)

NCBI TaxID	10090
Cellosaurus	CVCL_5772

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

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

P53

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

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.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	A cada 3 a 5 dias
Post-thaw recovery	Deixe as células se recuperarem por pelo menos 24 a 48 horas.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Breed / subspecies	C57BL/6J
Donor age	Adulto

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Disclaimer

Nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de pesquisa laboratorial in vitro e não se destinam ao uso clínico ou diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os usuários devem cumprir todas as diretrizes e regulamentações aplicáveis ao manuseio e uso dessas células em um ambiente de pesquisa.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes