

Células Hep-70.4 | 400207**Información general****Description**

La línea celular de hepatoma Hep-70.4 se deriva de un tumor hepático de ratón, específicamente de la cepa de ratón C57BL/6J. Esta línea celular se caracteriza por sus mutaciones en el gen p53, las cuales se identificaron en diferentes pases durante la propagación in vitro. En el pasaje número 8, se detectó una señal adicional débil en el análisis de polimorfismo de conformación de cadena simple (SSCP), lo que indicaba la presencia de una mutación en el gen p53. En el pasaje número 38, se identificaron dos mutaciones puntuales distintas en el gen p53: una transversión de G:C a C:G en el codón 135 y una transversión de C:G a G:C en el codón 138 del exón 5. Estas mutaciones provocaron cambios de aminoácidos de alanina a prolina y de cisteína a triptófano, respectivamente.

La línea celular Hep-70.4 presenta un fenotipo morfológico que varía significativamente durante su propagación. Algunas sublíneas exhiben una morfología epitelial, mientras que otras muestran un aspecto similar al de los fibroblastos. Esta heterogeneidad refleja la naturaleza compleja de la línea celular y su adaptabilidad bajo diferentes condiciones de cultivo. La presencia de alelos p53 tanto normales como mutados en los primeros pases sugiere que las mutaciones confieren una ventaja selectiva de crecimiento, lo que lleva al predominio de los clones mutados con el tiempo.

El análisis de las proteínas de filamentos intermedios de la línea celular Hep-70.4 reveló la expresión de las queratinas simples K8 y K18, que son típicas de las células hepáticas normales, así como de vimentina y queratina K19 en distintos grados. Estos patrones proteicos confirman el origen hepatocítico de la línea celular y su clasificación como línea de hepatoma. La estabilidad genómica de Hep-70.4 se evaluó además mediante un análisis de huellas de ADN, el cual no reveló ninguna anomalía estructural importante, aunque se observaron cambios en las intensidades relativas de ciertas bandas a medida que aumentaba el número de pases.

Organism

Ratón

Tissue

Hígado

Disease

Carcinoma hepatocelular

Synonyms

HEP-70.4, 70.4

Características**Breed/Subspecies**

C57BL/6J

Age

Adulto

Gender

Mujer

Morphology

De tipo epitelial

Células Hep-70.4 | 400207**Growth properties**

Adherente

Datos normativos**Citation**

Hep-70.4 (número de catálogo de Cytion 400207)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_5772

Datos biomoleculares**Tumorigenic**

Sí, en ratones C3H/He

Mutational profile

P53

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 NaHCO₃, 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.

Seeding density 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal**

Cada 3 a 5 días

Células Hep-70.4 | 400207

Post-Thaw Recovery

Deja que las células se recuperen durante al menos 24 a 48 horas.

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 centrifuga 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.

Células Hep-70.4 | 400207

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.

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.