

**Células Hep-56.1B | 400102****Informações gerais****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 de vimentina e 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.

**Organism**

Mouse

**Tissue**

Fígado

**Disease**

Carcinoma hepatocelular

**Synonyms**

HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

**Características****Breed/Subspecies**

C57BL/6J

**Age**

Adulto

**Gender**

Mulher

**Morphology**

De tipo epitelial

**Células Hep-56.1B | 400102**

<b>Growth properties</b>	Aderente
--------------------------	----------

**Dados regulatórios**

<b>Citation</b>	Hep-56.1B (número de catálogo da Cytion 400202)
-----------------	---

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	10090
-------------------	-------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5767
-----------------------------	-----------

**Dados biomoleculares**

<b>Protein expression</b>	Queratina 8, Queratina 18, Vimentina.
---------------------------	---------------------------------------

<b>Tumorigenic</b>	Sim, em camundongos C57BL/6J
--------------------	------------------------------

<b>Mutational profile</b>	Mutação no P53 (códon 277 no exão 8 => arginina — treonina).
---------------------------	--

**Manuseio**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Adicione 10% de FBS ao meio
--------------------	-----------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	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.
---------------------	--

<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup>
------------------------	---

## Células Hep-56.1B | 400102

**Fluid renewal** A cada 3 a 5 dias

**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 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 centrifuga 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 CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificada.

## Células Hep-56.1B | 400102

### 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.