Product sheet

Клетки H4-II-E-C3 | 305336

Обща информация

Description	Клетъчната линия H4-II-E-C3 е добре установена клетъчна линия от хепатома на плъх, получена от карцином на черния дроб. Тази линия се използва широко в изследвания, насочени към специфичните за черния дроб функции и метаболитните процеси, протичащи в хепатоцитите. Една забележителна характеристика на клетките H4-II-E-C3 е високата експресия на глутаматния транспортер с висока афинитет GLT-1A. Тази характеристика ги отличава от нормалните хепатоцити на плъхове, които не проявяват значителни нива на този транспортер. Експресията на GLT-1A в клетките H4-II-E-C3 позволява ефективно проучване на метаболизма и транспорта на глутамат, като предоставя информация за трансформацията на чернодробните клетки и метаболизма на туморните клетки. Освен това клетките H4-II-E-C3 се използват за изследване на метаболизма на алдехидите, по-специално на активността на митохондриалната алдехид дехидрогеназа от клас 2 (ALDH2). Този ензим е от решаващо значение за метаболизирането на ацеталдехида, образуван при окисляването на етанола, което прави тази клетъчна линия подходяща за изследвания върху метаболизма на алкохола и неговите клетъчни ефекти. Използването на техниката „ацеталдехиден клемп“ в тези клетки позволява прецизно измерване на активността на ALDH2 без необходимост от изолиране на митохондриите, което улеснява изследването на ензимната кинетика и въздействието на различни инхибитори върху детоксикацията на алдехидите.
Organism	Плъх
Tissue	Черен дроб
Disease	Хепатоцелуларен карцином
Synonyms	H4IIEC3, H4-IIE-C3, H4-II-EC3, H-II-E-C3

Характеристики

Breed/Subspecies	AxC
Age	Неуточнено
Gender	Мъжки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	H4-II-E-C3 (каталожен номер на Cytion 305336)

Клетки H4-II-E-C3 | 305336

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0285
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия на хепатоцелуларен карцином при плъхове (H4-II-E-C3) съдържа неопределени модификации, класифицирани като ГМО, които са стабилно присъстващи в трансформираната чернодробна клетъчна линия. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	Генна експресия: тирозин аминотрансфераза, албумин, трансферин, протромбин
Tumorigenic	Да, при плъхове от линията AxC

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	$1–3 \times 10^4/см^2$
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки H4-II-E-C3 | 305336

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Клетки H4-II-E-C3 | 305336

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.