

## Клетки Hep-74.3A | 400208

## Обща информация

## Description

Хепатомната клетъчна линия Hep-74.3 е получена от тумор на черния дроб на мишка, по-конкретно от щама СЗН/Не. Тази клетъчна линия се характеризира с хепатоцитен произход, потвърден чрез анализ на протеини от междинни нишки. Hep-74.3 експресира прости кератини K8 и K18, които са типични за нормалните чернодробни клетки, както и виментин и кератин K19 в различна степен. Тези протеинови модели потвърждават хепатоцитната природа на клетъчната линия и класифицирането ѝ като хепатомна линия.

Клетъчната линия Hep-74.3 показва предимно епителна морфология, отразяваща произхода ѝ от хепатоцити. Този морфологичен фенотип съответства на профила на експресия на протеини. Анализът на ДНК отпечатъка на Hep-74.3 не разкрива никакви големи структурни аномалии, което показва известна степен на геномна стабилност. Въпреки това се наблюдават някои промени в относителната интензивност на специфични ленти с увеличаване на броя на пасажите, което предполага незначителна геномна променливост през продължителни периоди на култивиране.

Въпреки отсъствието на откриваеми мутации на p53 в първичните чернодробни тумори на мишки, в някои хепатомни линии бяха открити аберации по време на *in vitro* размножаването. Клетъчната линия Hep-74.3 беше анализирана за мутации в гените p53 и c-Ha-ras. Липсата на откриваеми мутации в гена p53 в тази линия по време на ранните пасажи предполага стабилен генетичен фон. Тази клетъчна линия служи като ценен модел за изучаване на хепатоцелуларния карцином, като дава представа за клетъчните и молекулярните механизми, лежащи в основата на туморогенезата на черния дроб.

<b>Organism</b>	Мишка
<b>Tissue</b>	Черен дроб
<b>Disease</b>	Хепатоцелуларен карцином
<b>Synonyms</b>	Hep-74.3, HEP-74.3a, 74.3A, 74.3a

## Характеристики

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Възрастни
<b>Gender</b>	Жена
<b>Morphology</b>	Подобни на епител
<b>Growth properties</b>	Придържащи се

## Клетки Нер-74.3А | 400208

## Регулаторни данни

<b>Citation</b>	Нер-74.3А (каталожен номер 400208 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5773

## Биомолекулярни данни

<b>Protein expression</b>	Кератин 8, кератин 18, виментин
<b>Tumorigenic</b>	Да, при мишки С3Н/НЕ
<b>Mutational profile</b>	P53 wt

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820600a)
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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 ресуспендирайте, 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.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ клетки/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	На всеки 3 до 5 дни

**Клетки Нер-74.3А | 400208****Post-Thaw Recovery**

След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност  $5 \times 10^4$  клетки/ $\text{cm}^2$  и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

**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 или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^\circ\text{C}$ , 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 антиминобен агент с температура  $37\text{ }^\circ\text{C}$ , 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 разбърквате 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**

$37\text{ }^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

## Клетки Нер-74.3А | 400208

### Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### 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.