

Buňky H4-II-E-C3 | 305336**Obecné informace****Description**

Buněčná linie H4-II-E-C3 je dobře zavedená buněčná linie hepatomu krysy odvozená z karcinomu jater. Tato linie se široce využívá ve výzkumu zaměřeném na funkce specifické pro játra a metabolické procesy probíhající v hepatocytech. Jedním z pozoruhodných aspektů buněk H4-II-E-C3 je jejich vysoká exprese glutamátového transportéru s vysokou afinitou GLT-1A. Tato vlastnost je odlišuje od normálních hepatocytů potkana, které nevykazují významné hladiny tohoto transportéru. Exprese GLT-1A v buňkách H4-II-E-C3 umožňuje efektivní studium metabolismu a transportu glutamátu, čímž poskytuje poznatky o transformaci jaterních buněk a metabolismu nádorových buněk.

Kromě toho se buňky H4-II-E-C3 používají ke studiu metabolismu aldehydů, zejména aktivity mitochondriální aldehyddehydrogenázy třídy 2 (ALDH2). Tento enzym je klíčový pro metabolizaci acetaldehydu vznikajícího při oxidaci etanolu, díky čemuž je tato buněčná linie vhodná pro výzkum metabolismu alkoholu a jeho buněčných účinků. Použití techniky „acetaldehydového clampu“ u těchto buněk umožnilo přesné měření aktivity ALDH2 bez nutnosti izolace mitochondrií, což usnadňuje studium kinetiky enzymu a vlivu různých inhibitorů na detoxikaci aldehydů.

Organism

Krysy

Tissue

Játra

Disease

Hepatocelulární karcinom

Synonyms

H4IIEC3, H4-IIE-C3, H4-II-EC3, H-II-E-C3

Charakteristika**Breed/Subspecies**

AxC

Age

Nespecifikováno

Gender

Muži

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

H4-II-E-C3 (katalogové číslo Cytion 305336)

Biosafety level

1

Buňky H4-II-E-C3 | 305336

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0285

GMO Status GMO-S1: Tato buněčná linie hepatocelulárního karcinomu krysy (H4-II-E-C3) obsahuje nedefinované modifikace klasifikované jako GMO, které jsou stabilně přítomny v transformované jaterní buněčné linii. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression Expresí genů: tyrosinaminotransferáza, albumin, transferin, protrombin

Tumorigenic Ano, u potkanů AxC

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Seeding density $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky H4-II-E-C3 | 305336

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky H4-II-E-C3 | 305336

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.