Product sheet

Buňky RH-35 | 305210

Obecné informace

Description	Buněčná linie H4-II-E (označovaná také jako RH-35) je derivátem potkaního hepatomu Reuber H-35. Tato buněčná linie pochází z nádoru jater vyvolaného u samců potkana ACI působením chemického karcinogenu N-2-fluorenyldiacetamidu. Po transplantaci do potkanů ACI tvoří buňky H4-II-E rychle rostoucí nádory s histologickými znaky charakteristickými pro špatně diferencované hepatomy. Jsou obzvláště citlivé na indukci aktivity arylhydrokarbonhydroxylázy (AHH), což z nich činí spolehlivý systém pro studium enzymových reakcí na polycyklické aromatické uhlovodíky a sloučeniny podobné dioxinům. Buňky H4-II-E slouží také jako model pro studium buněčných reakcí na karcinogeny a záření, vzhledem k jejich klonogenitě a možnosti testovat dlouhodobé přežívání buněk po léčbě. Jejich použití se rozšiřuje na zkoumání mechanismů indukce enzymů, metabolismu xenobiotik a toxikologie specifické pro játra. Díky těmto vlastnostem jsou H4-II-E neocenitelným nástrojem ve výzkumu rakoviny a toxikologickém screeningu.
Organism	Krysy
Tissue	Játra
Disease	Hepatocelulární karcinom potkana
Synonyms	H4II, H-35tc2, Reuber-H-35 hepatoma tissue culture 2, Reuber H-35 tc2, Reuber H35 tc2, H-35 Reuber tc2, H35 Reuber tc2, RH-35 tc2, RH35 tc2, H-35 tc2, H35 tc2

Charakteristika

Breed/Subspecies	AxC
Gender	Muži
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	RH-35 (katalogové číslo Cytion 305210)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116

Buňky RH-35 | 305210

CellosaurusAccession	CVCL_4623

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilní glutamin, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820600a)
Supplements	Doplňte 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 odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1:2 až 1:4
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 RH-35 | 305210

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 odstřeďujte 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 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	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.
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

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 vizuálním kontrolám.