

Hep-70.4-celler | 400207

General information

Description

Hep-70.4 hepatomcellelinjen stammer fra en muselever tumor, specifikt fra C57BL/6J-musestammen. Denne cellelinje er bemærkelsesværdig for sine mutationer i p53-genet, som blev identificeret ved forskellige passager under in vitro-opformering. Ved passage nummer 8 blev der opdaget et svagt ekstra signal i SSCP-analysen (single-strand conformation polymorphism), hvilket indikerede tilstedeværelsen af en p53-mutation. Ved passage nummer 38 blev der identificeret to forskellige p53-punktmutationer: en G:C til C:G-transversion ved codon 135 og en C:G til G:C-transversion ved codon 138 i exon 5. Disse mutationer førte til aminosyreændringer fra henholdsvis alanin til prolin og cystein til tryptofan.

Hep-70.4-cellelinjen udviser en morfologisk fænotype, der varierer betydeligt i løbet af dens forering. Nogle sublinjer udviser en epitelial morfologi, mens andre har et fibroblastlignende udseende. Denne heterogenitet afspejler cellelinjens komplekse natur og dens tilpasningsevne under forskellige dyrkningsforhold. Tilstedeværelsen af både normale og muterede p53-alleler i de tidlige passager tyder på, at mutationerne giver en selektiv vækstfordel, hvilket fører til en overvægt af muterede kloner med tiden.

Intermediær filamentproteinanalyse af Hep-70.4-cellelinjen afslørede ekspresion af simple keratiner K8 og K18, som er typiske for normale leverceller, samt vimentin og keratin K19 i varierende grad. Disse proteinmønstre bekræfter cellelinjens hepatocytiske oprindelse og dens klassificering som en hepatomlinje. Den genomiske stabilitet af Hep-70.4 blev yderligere vurderet ved hjælp af DNA-fingeraftryksanalyse, som ikke afslørede nogen større strukturelle abnormiteter, selvom der blev observeret ændringer i den relative intensitet af visse bånd med stigende antal passager.

Organism	Mus
Tissue	Lever
Disease	Hepatocellulært karcinom
Synonyms	HEP-70.4, 70.4

Karakteristika

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Voksen
Gender	Kvinde
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhæftende

Hep-70.4-celler | 400207

Regulatoriske data

Citation	Hep-70.4 (Cytion katalognummer 400207)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5772

Biomolekylære data

Tumorigenic	Yeoes, i C3H/He-mus
Mutational profile	P53

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	Hver 3. til 5. dag
Post-Thaw Recovery	Lad cellerne komme sig i mindst 24 til 48 timer.

Hep-70.4-celler | 400207

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Hep-70.4-celler | 400207

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.