

Hep-74.3A-Zellen | 400208

Allgemeine Informationen

Description

Die Hep-74.3 Hepatom-Zelllinie stammt von einem Lebertumor der Maus, genauer gesagt vom C3H/He-Mausstamm. Diese Zelllinie zeichnet sich durch ihren hepatozytären Ursprung aus, der durch die Analyse von Intermediärfilamentproteinen bestätigt wurde. Hep-74.3 exprimiert die einfachen Keratine K8 und K18, die typisch für normale Leberzellen sind, sowie Vimentin und Keratin K19 in unterschiedlichem Maße. Diese Proteinmuster bestätigen die hepatozytäre Natur der Zelllinie und ihre Klassifizierung als Hepatom-Linie.

Die Zelllinie Hep-74.3 weist eine überwiegend epitheliale Morphologie auf, was auf ihre Herkunft aus Hepatozyten hinweist. Dieser morphologische Phänotyp stimmt mit ihrem Proteinexpressionsprofil überein. Die DNA-Fingerprint-Analyse von Hep-74.3 ergab keine größeren strukturellen Anomalien, was auf ein gewisses Maß an genomischer Stabilität hindeutet. Allerdings wurden mit zunehmender Passagezahl einige Veränderungen in den relativen Intensitäten spezifischer Banden beobachtet, was auf eine geringfügige genomische Variabilität über längere Kulturzeiträume hindeutet.

Obwohl in den primären Lebertumoren der Maus keine p53-Mutationen nachweisbar waren, wurden in einigen Hepatomlinien während der In-vitro-Vermehrung Aberrationen gefunden. Die Zelllinie Hep-74.3 wurde auf Mutationen in den Genen p53 und c-Ha-ras untersucht. Das Fehlen nachweisbarer Mutationen im p53-Gen in dieser Linie während der frühen Passagen deutet auf einen stabilen genetischen Hintergrund hin. Diese Zelllinie dient als wertvolles Modell für die Untersuchung des Leberzellkarzinoms und bietet Einblicke in die zellulären und molekularen Mechanismen, die der Tumorentstehung in der Leber zugrunde liegen.

Organism

Maus

Tissue

Leber

Disease

Hepatozelluläres Karzinom

Synonyms

Hep-74.3, HEP-74.3a, 74.3A, 74.3a

Merkmale

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Erwachsener

Gender

Weiblich

Morphology

Epithelähnlich

Growth properties

Adhärent

Hep-74.3A-Zellen | 400208**Regulatorische Daten**

Citation	Hep-74.3A (Cytion Katalognummer 400208)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5773

Biomolekulare Daten

Protein expression	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin
Tumorigenic	Ja, bei C3H/HE-Mäusen
Mutational profile	P53 wt

Handhabung

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiles Glutamin, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820600a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:8
Seeding density	1 x 10 ⁴ Zellen/cm ²

Hep-74.3A-Zellen | 400208

Fluid renewal Alle 3 bis 5 Tage

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Hep-74.3A-Zellen | 400208

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

M_18-3: 18
M_4-2: 21.3
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 12
M_7-1: 26
M_1-1: 10
M_8-1: 16
M_2-1: 9
M_15-3: 25.3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 16
M_17-2: 15
M_12-1: 16
M_5-5: 15
M_X-1: 26
M_13-1: 17
Human D4/D8: -