

Hep-70.4-Zellen | 400207**Allgemeine Informationen****Description**

Die Hep-70.4 Hepatom-Zelllinie stammt von einem Lebertumor der Maus, genauer gesagt vom Mausstamm C57BL/6J. Diese Zelllinie zeichnet sich durch Mutationen im p53-Gen aus, die bei verschiedenen Passagen während der In-vitro-Vermehrung festgestellt wurden. Bei Passage Nummer 8 wurde in der Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse (SSCP) ein schwaches zusätzliches Signal festgestellt, das auf das Vorhandensein einer p53-Mutation hinweist. Bei Passage Nummer 38 wurden zwei verschiedene p53-Punktmutationen identifiziert: eine G:C-zu-C:G-Transversion am Codon 135 und eine C:G-zu-G:C-Transversion am Codon 138 von Exon 5. Diese Mutationen führten zu einem Aminosäurewechsel von Alanin zu Prolin bzw. von Cystein zu Tryptophan.

Die Hep-70.4-Zelllinie weist einen morphologischen Phänotyp auf, der während ihrer Vermehrung stark variiert. Einige Sublinien weisen eine epitheliale Morphologie auf, während andere ein fibroblastenähnliches Erscheinungsbild zeigen. Diese Heterogenität spiegelt die komplexe Natur der Zelllinie und ihre Anpassungsfähigkeit unter verschiedenen Kulturbedingungen wider. Das Vorhandensein sowohl normaler als auch mutierter p53-Allele in den frühen Passagen deutet darauf hin, dass die Mutationen einen selektiven Wachstumsvorteil verschaffen, der im Laufe der Zeit zur Dominanz der mutierten Klone führt.

Die Analyse der Intermediärfilamentproteine der Zelllinie Hep-70.4 ergab die Expression der einfachen Keratine K8 und K18, die für normale Leberzellen typisch sind, sowie von Vimentin und Keratin K19 in unterschiedlichem Ausmaß. Diese Proteinmuster bestätigen den hepatozytären Ursprung der Zelllinie und ihre Klassifizierung als Hepatom-Linie. Die genomische Stabilität von Hep-70.4 wurde außerdem durch eine DNA-Fingerprint-Analyse bewertet, die keine größeren strukturellen Anomalien ergab, obwohl mit zunehmender Passagezahl Veränderungen in der relativen Intensität bestimmter Banden beobachtet wurden.

Organism Maus**Tissue** Leber**Disease** Hepatozelluläres Karzinom**Synonyms** HEP-70.4, 70.4**Merkmale****Breed/Subspecies** C57BL/6J**Age** Erwachsener**Gender** Weiblich**Morphology** Epithelähnlich

Hep-70.4-Zellen | 400207

Growth properties	Adhärent
--------------------------	----------

Regulatorische Daten

Citation	Hep-70.4 (Cytion Katalognummer 400207)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5772
-----------------------------	-----------

Biomolekulare Daten

Tumorigenic	Ja, bei C3H/He-Mäusen
--------------------	-----------------------

Mutational profile	P53
---------------------------	-----

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

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-70.4-Zellen | 400207

Fluid renewal Alle 3 bis 5 Tage

Post-Thaw Recovery Lassen Sie die Zellen mindestens 24 bis 48 Stunden lang ruhen.

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$, 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% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Hep-70.4-Zellen | 400207

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: 26,27
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: -