

Κύτταρα H4-II-E-C3 | 305336

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά H4-II-E-C3 είναι μια καθιερωμένη κυτταρική σειρά ηπατώματος αρουραίου που προέρχεται από καρκίνωμα του ήπατος. Η σειρά αυτή χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα που εστιάζει στις ειδικές για το ήπαρ λειτουργίες και στις μεταβολικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα εντός των ηπατοκυττάρων. Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των κυττάρων H4-II-E-C3 είναι η υψηλή έκφραση του μεταφορέα γλουταμινικού υψηλής συγγένειας GLT-1A. Το χαρακτηριστικό αυτό τα διακρίνει από τα φυσιολογικά ηπατοκύτταρα αρουραίου, τα οποία δεν παρουσιάζουν σημαντικά επίπεδα αυτού του μεταφορέα. Η έκφραση του GLT-1A στα κύτταρα H4-II-E-C3 επιτρέπει την αποτελεσματική μελέτη του μεταβολισμού και της μεταφοράς του γλουταμινικού, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με τη μεταμόρφωση των ηπατικών κυττάρων και τον μεταβολισμό των καρκινικών κυττάρων.

Επιπλέον, τα κύτταρα H4-II-E-C3 χρησιμοποιούνται για τη μελέτη του μεταβολισμού των αλδευδών, ιδίως της δραστηριότητας της μιτοχονδριακής αλδεϋδοδεϋδρογενάσης κλάσης 2 (ALDH2). Το ένζυμο αυτό είναι κρίσιμο για τον μεταβολισμό της ακεταλδεϋδης που παράγεται κατά την οξείδωση της αιθανόλης, καθιστώντας αυτή τη κυτταρική σειρά κατάλληλη για έρευνα σχετικά με τον μεταβολισμό του αλκοόλ και τις κυτταρικές επιδράσεις του. Η χρήση της τεχνικής «acetaldehyde clamp» σε αυτά τα κύτταρα έχει επιτρέψει την ακριβή μέτρηση της δραστηριότητας της ALDH2 χωρίς την ανάγκη απομόνωσης των μιτοχονδρίων, διευκολύνοντας τη μελέτη της κινητικής του ενζύμου και της επίδρασης διαφόρων αναστολέων στην αποτοξίνωση των αλδευδών.

Organism

Αρουραίος

Tissue

Ήπαρ

Disease

Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

AxC

Age

Απροσδιόριστο

Gender

Άντρας

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation

H4-II-E-C3 (αριθμός καταλόγου Cytion 305336)

Κύτταρα H4-II-E-C3 | 305336**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0285

GMO Status GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά ηπατοκυτταρικού καρκινώματος αρουαίου (H4-II-E-C3) περιέχει ακαθόριστες τροποποιήσεις που ταξινομούνται ως GMO και υπάρχουν σταθερά στη μετασηματισμένη ηπατική κυτταρική σειρά. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression Γονιδιακή έκφραση: τυροσίνη αμινοτρανσφεράση, αλβουμίνη, τρανσφερίνη, προθρομβίνη

Tumorigenic Ναι, σε αρουαίους AxC

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμειξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

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

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα H4-II-E-C3 | 305336**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγρατοποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα H4-II-E-C3 | 305336

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.