

## Κύτταρα Hep-70.4 | 400207

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά ηπατώματος Hep-70.4 προέρχεται από όγκο του ήπατος ποντικού, συγκεκριμένα από το στέλεχος ποντικού C57BL/6J. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι αξιοσημείωτη για τις μεταλλάξεις στο γονίδιο p53, οι οποίες εντοπίστηκαν σε διαφορετικά περάσματα κατά τον *in vitro* πολλαπλασιασμό. Στον αριθμό διέλευσης 8, ανιχνεύθηκε ένα ασθενές πρόσθετο σήμα στην ανάλυση πολυμορφισμού διαμόρφωσης μονής έλικας (SSCP), υποδεικνύοντας την παρουσία μιας μετάλλαξης p53. Μέχρι τον αριθμό διέλευσης 38, εντοπίστηκαν δύο διαφορετικές σημειακές μεταλλάξεις p53: μια μεταστροφή G:C σε C:G στο κωδικόνιο 135 και μια μεταστροφή C:G σε G:C στο κωδικόνιο 138 του εξωνίου 5. Οι μεταλλάξεις αυτές οδήγησαν σε αλλαγές αμινοξέων από αλανίνη σε προλίνη και από κυστεΐνη σε τρυπτοφάνη, αντίστοιχα.

Η κυτταρική σειρά Hep-70.4 εμφανίζει μορφολογικό φαινότυπο που μεταβάλλεται σημαντικά κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού της. Ορισμένες υποσειρές εμφανίζουν επιθηλιακή μορφολογία, ενώ άλλες παρουσιάζουν εμφάνιση που μοιάζει με ινοβλάστη. Αυτή η ετερογένεια αντανακλά την πολύπλοκη φύση της κυτταρικής σειράς και την προσαρμοστικότητα της σε διαφορετικές συνθήκες καλλιέργειας. Η παρουσία τόσο φυσιολογικών όσο και μεταλλαγμένων αλληλόμορφων p53 στα πρώτα περάσματα υποδηλώνει ότι οι μεταλλάξεις παρέχουν ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα ανάπτυξης, οδηγώντας στην επικράτηση των μεταλλαγμένων κλώνων με την πάροδο του χρόνου.

Η ανάλυση των πρωτεϊνών ενδιάμεσων νηματίων της κυτταρικής σειράς Hep-70.4 αποκάλυψε την έκφραση των απλών κερατινών K8 και K18, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές των φυσιολογικών ηπατικών κυττάρων, καθώς και της βιμεντίνης και της κερατίνης K19 σε διαφορετικό βαθμό. Αυτά τα πρωτεϊνικά μοτίβα επιβεβαιώνουν την ηπατοκυτταρική προέλευση της κυτταρικής σειράς και την ταξινόμησή της ως ηπατώματος. Η γονιδιωματική σταθερότητα της Hep-70.4 αξιολογήθηκε περαιτέρω μέσω της ανάλυσης δακτυλικών αποτυπωμάτων DNA, η οποία δεν αποκάλυψε σημαντικές δομικές ανωμαλίες, αν και παρατηρήθηκαν αλλαγές στις σχετικές εντάσεις ορισμένων ζωνών με την αύξηση του αριθμού διέλευσης.

**Organism** Ποντίκι

**Tissue** Ήπαρ

**Disease** Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

**Synonyms** HEP-70.4, 70.4

## Χαρακτηριστικά

**Breed/Subspecies** C57BL/6J

**Age** Ενηλίκων

**Gender** Γυναίκα

**Morphology** Επιθηλιοειδής

## Κύτταρα Hep-70.4 | 400207

<b>Growth properties</b>	Προσκολλημένο
--------------------------	---------------

## Ρυθμιστικά δεδομένα

<b>Citation</b>	Hep-70.4 (αριθμός καταλόγου Cytion 400207)
-----------------	--

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	10090
-------------------	-------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5772
-----------------------------	-----------

## Βιομοριακά δεδομένα

<b>Tumorigenic</b>	Ναι, σε ποντίκια C3H/He
--------------------	-------------------------

<b>Mutational profile</b>	P53
---------------------------	-----

## Χειρισμός

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

<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
--------------------	--------------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	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, αναμείξτε 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.
---------------------	--

<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ κύτταρα/cm <sup>2</sup>
------------------------	---

<b>Fluid renewal</b>	Κάθε 3 έως 5 ημέρες
----------------------	---------------------

**Κύτταρα Hep-70.4 | 400207****Post-Thaw Recovery**

Αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν για τουλάχιστον 24 έως 48 ώρες.

**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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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 φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

## Κύτταρα Hep-70.4 | 400207

### Freezing Procedure

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

### Shipping Conditions

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

### Storage Conditions

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

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### 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.