

Cellules Hep-70.4 | 400207

Informations générales

Description

La lignée cellulaire d'hépatome Hep-70.4 est dérivée d'une tumeur hépatique de souris, plus précisément de la souche de souris C57BL/6J. Cette lignée cellulaire est remarquable pour ses mutations dans le gène p53, qui ont été identifiées à différents passages au cours de la propagation in vitro. Au numéro de passage 8, un faible signal supplémentaire a été détecté dans l'analyse du polymorphisme de conformation simple brin (SSCP), indiquant la présence d'une mutation du gène p53. Au numéro de passage 38, deux mutations ponctuelles distinctes de p53 ont été identifiées : une transversion G:C à C:G au codon 135 et une transversion C:G à G:C au codon 138 de l'exon 5. Ces mutations ont entraîné des changements d'acides aminés, de l'alanine à la proline et de la cystéine au tryptophane, respectivement.

La lignée cellulaire Hep-70.4 présente un phénotype morphologique qui varie considérablement au cours de sa propagation. Certaines sous-lignées présentent une morphologie épithéliale, tandis que d'autres ont un aspect fibroblastique. Cette hétérogénéité reflète la nature complexe de la lignée cellulaire et son adaptabilité dans différentes conditions de culture. La présence d'allèles p53 normaux et mutés dans les premiers passages suggère que les mutations confèrent un avantage sélectif à la croissance, conduisant à la prédominance des clones mutés au fil du temps.

L'analyse des protéines du filament intermédiaire de la lignée cellulaire Hep-70.4 a révélé l'expression des kératines simples K8 et K18, qui sont typiques des cellules hépatiques normales, ainsi que de la vimentine et de la kératine K19 à des degrés divers. Ces profils protéiques confirment l'origine hépatocytaire de la lignée cellulaire et sa classification en tant que lignée d'hépatome. La stabilité génomique de Hep-70.4 a été évaluée par l'analyse de l'empreinte ADN, qui n'a révélé aucune anomalie structurelle majeure, bien que des changements dans l'intensité relative de certaines bandes aient été observés avec l'augmentation du nombre de passages.

Organism Souris

Tissue Foie

Disease Carcinome hépatocellulaire

Synonyms HEP-70.4, 70.4

Caractéristiques

Breed/Subspecies C57BL/6J

Age Adulte

Gender Femme

Morphology De type épithélial

Cellules Hep-70.4 | 400207

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation Hep-70.4 (Cytion numéro de catalogue 400207)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5772

Données biomoléculaires

Tumorigenic Oui, chez les souris C3H/He

Mutational profile P53

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:4 à 1:8 est recommandé

Seeding density 1×10^4 cellules/cm²

Cellules Hep-70.4 | 400207

Fluid renewal Tous les 3 à 5 jours

Post-Thaw Recovery Laisser les cellules se rétablir pendant au moins 24 à 48 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Cellules Hep-70.4 | 400207

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Cellules Hep-70.4 | 400207

Profil STR	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: -