

H4-II-E-C3 sejtek | 305336

Általános információk

Description

A H4-II-E-C3 sejtvonal egy jól bevált, patkány májkarcinómából származó hepatoma sejtvonal. Ezt a sejtvonalat széles körben használják a májra jellemző funkciókra, valamint a májsejtekben lejátszódó anyagcsere-folyamatokra irányuló kutatásokban. A H4-II-E-C3 sejtek egyik figyelemre méltó tulajdonsága a nagy affinitású glutamát-transzporter, a GLT-1A magas expressziója. Ez a tulajdonság megkülönbözteti őket a normál patkány májsejtektől, amelyekben ez a transzporter nem fordul elő jelentős mennyiségben. A GLT-1A expressziója a H4-II-E-C3 sejtekben lehetővé teszi a glutamát-anyagcsere és -transzport hatékony vizsgálatát, így betekintést nyújt a májsejtek transzformációjába és a tumorsejtek anyagcseréjébe.

Ezen felül a H4-II-E-C3 sejteket az aldehid-anyagcsere, különösen a mitokondriális 2. osztályú aldehid-dehidrogenáz (ALDH2) aktivitásának vizsgálatára is használják. Ez az enzim kritikus szerepet játszik az etanol oxidációja során keletkező acetaldehid metabolizálásában, így ez a sejtvonal alkalmas az alkohol-anyagcsere és annak sejtszintű hatásainak kutatására. Az „acetaldehid-klamp” technika alkalmazása ezekben a sejtekben lehetővé tette az ALDH2-aktivitás pontos mérését a mitokondriumok izolálása nélkül, megkönnyítve az enzimkinetika, valamint a különböző inhibitorok aldehid-detoxikációra gyakorolt hatásának vizsgálatát.

Organism

Patkány

Tissue

Máj

Disease

Hepatocelluláris karcinóma

Synonyms

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

Jellemzők

Breed/Subspecies

AxC

Age

Meghatározatlan

Gender

Férfi

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

H4-II-E-C3 (Cytion katalógusszám: 305336)

Biosafety level

1

H4-II-E-C3 sejtek | 305336

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0285

GMO Status GMO-S1: Ez a patkány májsejtes karcinóma sejtvonal (H4-II-E-C3) olyan, GMO-ként besorolt, meghatározhatatlan módosításokat tartalmaz, amelyek stabilan jelen vannak a transzformált májsejtvonalban. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression Génkifejeződés: tirozin-aminotranszferáz, albumin, transzferrin, protrombin

Tumorigenic Igen, AxC-patkányokban

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

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

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

H4-II-E-C3 sejtek | 305336**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioürlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

H4-II-E-C3 sejtek | 305336

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.