

## Hep-74.3A sejtek | 400208

## Általános információk

## Description

A Hep-74.3 hepatóma sejtvonala egér májtumorból származik, konkrétan a C3H/He egértörzsből. Ezt a sejtvonalat a hepatocita eredet jellemzi, amit az intermedier filamentum fehérje analízisével igazoltak. A Hep-74.3 expresszálja a normális májsejtekre jellemző K8 és K18 egyszerű keratinokat, valamint különböző mértékben a vimentint és a K19 keratint. Ezek a fehérjemintázatok megerősítik a sejtvonala hepatocita jellegét és hepatóma vonalnak való besorolását.

A Hep-74.3 sejtvonala túlnyomórészt epiteliális morfológiát mutat, ami a hepatocitákból való származását tükrözi. Ez a morfológiai fenotípus összhangban van a fehérjeexpressziós profiljával. A Hep-74.3 DNS-ujjlenyomat-elemzése nem mutatott ki jelentős szerkezeti rendellenességeket, ami bizonyos fokú genomiális stabilitásra utal. Ugyanakkor bizonyos sávok relatív intenzitásának változásait figyeltük meg a növekvő passzázsszámmal, ami kisebb genomiális variabilitásra utal a hosszabb tenyésztési időszakok alatt.

Annak ellenére, hogy a primer egér májtumorsejtekben nem voltak kimutatható p53 mutációk, néhány hepatóma vonalban in vitro szaporítás során aberrációkat találtak. A Hep-74.3 sejtvonala elemezték a p53 és a c-Ha-ras gének mutációi szempontjából. A p53 gén kimutatható mutációinak hiánya ebben a vonalban a korai passzázssok során stabil genetikai háttérre utal. Ez a sejtvonala értékes modellként szolgál a hepatocelluláris karcinóma tanulmányozására, betekintést nyújtva a máj tumorigenezisének hátterében álló sejtes és molekuláris mechanizmusokba.

## Organism

Egér

## Tissue

Máj

## Disease

Hepatocelluláris karcinóma

## Synonyms

Hep-74.3, HEP-74.3a, 74.3A, 74.3a, 74.3a

## Jellemzők

## Breed/Subspecies

C57BL/6J

## Age

Felnőtt

## Gender

Női

## Morphology

Epithelszerű

## Growth properties

Adherent

## Szabályozási adatok

## Hep-74.3A sejtek | 400208

**Citation** Hep-74.3A (Cytion katalógusszám 400208)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_5773

## Biomolekuláris adatok

**Protein expression** Keratin 8, Keratin 18, Vimentin

**Tumorigenic** Igen, C3H/HE egerekben

**Mutational profile** P53 wt

## A kezelése

**Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion cikkszám 820600a)

**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 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékkal, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 3-5 naponta

**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket  $5 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

**Hep-74.3A sejtek | 400208****Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás 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.

**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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót 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 sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

## Hep-74.3A sejtek | 400208

### Freezing Procedure

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

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -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  $-150$  és  $-196\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ °C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### 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.