

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 ₃ (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 tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

Seeding density	1×10^4 sejt/cm ²
------------------------	--------------------------------------

Fluid renewal	3-5 naponta
----------------------	-------------

Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm ² 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 sejtkölcsönhatás 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% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

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

Hep-74.3A sejtek | 400208

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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.