

## Sel Hep-70.4 | 400207

## Informasi umum

## Description

Garis sel hepatoma Hep-70.4 berasal dari tumor hati tikus, khususnya dari galur tikus C57BL/6J. Garis sel ini terkenal karena mutasinya pada gen p53, yang diidentifikasi pada bagian yang berbeda selama perbanyakan in vitro. Pada bagian nomor 8, sinyal tambahan yang lemah terdeteksi dalam analisis polimorfisme konformasi untai tunggal (SSCP), yang menunjukkan adanya mutasi p53. Pada bagian nomor 38, dua mutasi titik p53 yang berbeda diidentifikasi: transversi G: C ke C: G pada kodon 135 dan transversi C: G ke G: C pada kodon 138 dari ekson 5. Mutasi ini menyebabkan perubahan asam amino dari alanin menjadi prolin dan sistein menjadi triptofan.

Garis sel Hep-70.4 menampilkan fenotipe morfologi yang bervariasi secara signifikan selama perbanyakannya. Beberapa sublines menunjukkan morfologi epitel, sementara yang lain menunjukkan penampilan seperti fibroblas. Heterogenitas ini mencerminkan sifat kompleks dari garis sel dan kemampuan beradaptasi di bawah kondisi kultur yang berbeda. Kehadiran alel p53 yang normal dan bermutasi pada bagian awal menunjukkan bahwa mutasi memberikan keuntungan pertumbuhan selektif, yang mengarah pada dominasi klon yang bermutasi dari waktu ke waktu.

Analisis protein filamen menengah dari garis sel Hep-70.4 mengungkapkan ekspresi keratin sederhana K8 dan K18, yang merupakan ciri khas sel hati normal, serta vimentin dan keratin K19 pada tingkat yang berbeda-beda. Pola protein ini mengkonfirmasi asal hepatositik dari garis sel dan klasifikasinya sebagai garis hepatoma. Stabilitas genom Hep-70.4 dinilai lebih lanjut melalui analisis sidik jari DNA, yang tidak menunjukkan adanya kelainan struktural utama, meskipun perubahan intensitas relatif dari pita-pita tertentu diamati dengan meningkatnya jumlah lintasan.

## Organism

Mouse

## Tissue

Hati

## Disease

Karsinoma hepatoseluler

## Synonyms

HEP-70.4, 70.4

## Karakteristik

## Breed/Subspecies

C57BL/6J

## Age

Dewasa

## Gender

Perempuan

## Morphology

Seperti epitel

## Growth properties

Patuh

## Sel Hep-70.4 | 400207

## Data Peraturan

<b>Citation</b>	Hep-70.4 (Nomor katalog Cytion 400207)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5772

## Data Biomolekuler

<b>Tumorigenic</b>	Ya, pada tikus C3H / Dia
<b>Mutational profile</b>	P53

## Penanganan

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Tambahkan media dengan 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ sel/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Setiap 3 hingga 5 hari
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Biarkan sel pulih setidaknya selama 24 hingga 48 jam.

## Sel Hep-70.4 | 400207

### Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

### Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah  $-150^{\circ}\text{C}$  untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu  $37^{\circ}\text{C}$  dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada  $300 \times g$  selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfer yang dilembapkan.

### Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

## Sel Hep-70.4 | 400207

### Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

### Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

### Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar  $-150$  hingga  $-196^{\circ}\text{C}$ . Penyimpanan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

## Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

### Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.