

Cellule Hep-74.3A | 400208**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare di epatoma Hep-74.3 deriva da un tumore epatico di topo, in particolare dal ceppo di topi C3H/He. Questa linea cellulare si caratterizza per la sua origine epatocitaria, confermata dall'analisi delle proteine del filamento intermedio. La Hep-74.3 esprime le cheratine semplici K8 e K18, tipiche delle cellule epatiche normali, nonché la vimentina e la cheratina K19 in misura variabile. Questi pattern proteici confermano la natura epatocitaria della linea cellulare e la sua classificazione come linea di epatoma.

La linea cellulare Hep-74.3 mostra una morfologia prevalentemente epiteliale, che riflette la sua origine dagli epatociti. Questo fenotipo morfologico è coerente con il suo profilo di espressione proteica. L'analisi dell'impronta del DNA di Hep-74.3 non ha rivelato alcuna anomalia strutturale di rilievo, indicando un certo grado di stabilità genomica. Tuttavia, sono stati osservati alcuni cambiamenti nell'intensità relativa di bande specifiche con l'aumento del numero di passaggi, suggerendo una piccola variabilità genomica in periodi di coltura prolungati.

Nonostante l'assenza di mutazioni p53 rilevabili nei tumori primari del fegato di topo, sono state riscontrate aberrazioni in alcune linee di epatoma durante la propagazione in vitro. La linea cellulare Hep-74.3 è stata analizzata per le mutazioni nei geni p53 e c-Ha-ras. L'assenza di mutazioni rilevabili nel gene p53 in questa linea durante i primi passaggi suggerisce un background genetico stabile. Questa linea cellulare funge da modello prezioso per lo studio del carcinoma epatocellulare, fornendo approfondimenti sui meccanismi cellulari e molecolari alla base della tumorigenesi epatica.

Organism

Mouse

Tissue

Fegato

Disease

Carcinoma epatocellulare

Synonyms

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

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

C57BL/6J

Age

Adulti

Gender

Donna

Morphology

Simile all'epitelio

Growth properties

Aderente

Cellule Hep-74.3A | 400208

Dati normativi

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | Hep-74.3A (numero di catalogo Cytion 400208) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 10090 |
| CellosaurusAccession | CVCL_5773 |

Dati biomolecolari

| | |
|---------------------------|--------------------------------------|
| Protein expression | Cheratina 8, cheratina 18, vimentina |
| Tumorigenic | Sì, nei topi C3H/HE |
| Mutational profile | P53 wt |

Manipolazione

| | |
|-----------------------------|---|
| Culture Medium | Ham's F12, w: 1,0 mM di glutammina stabile, w: 1,0 mM di piruvato di sodio, w: 1,1 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820600a) |
| Supplements | Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Subculturing | Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco. |
| Split ratio | Si consiglia un rapporto da 1:4 a 1:8 |
| Seeding density | 1 x 10 ⁴ cellule/cm ² |

Cellule Hep-74.3A | 400208

Fluid renewal Ogni 3-5 giorni

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Cellule Hep-74.3A | 400208

Flask Coating

Per un attacco e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Cellule Hep-74.3A | 400208

| | |
|--------------------|-----------------------|
| Profilo 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 |
| | 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: - |