

H4-II-E-C3 ląstelės | 305336

Bendra informacija

Description

H4-II-E-C3 ląstelių linija yra gerai žinoma žiurkių hepatomos ląstelių linija, išskirta iš kepenų karcinomos. Ši linija plačiai naudojama tyrimuose, skirtuose kepenims būdingoms funkcijoms ir metaboliniams procesams, vykstantiems hepatocituose. Vienas iš svarbiausių H4-II-E-C3 ląstelių bruožų yra didelė didelio afiniteto glutamato transporterio GLT-1A ekspresija. Ši savybė jas išskiria iš normalių žiurkių hepatocitų, kuriuose šio transporterio lygis nėra reikšmingas. GLT-1A ekspresija H4-II-E-C3 ląstelėse leidžia veiksmingai tirti glutamato metabolizmą ir transportą, suteikdama įžvalgų apie kepenų ląstelių transformaciją ir navikinių ląstelių metabolizmą.

Be to, H4-II-E-C3 ląstelės naudojamos aldehydų metabolizmui tirti, ypač mitochondrinės 2 klasės aldehyddehidrogenazės (ALDH2) aktyvumui. Šis fermentas yra labai svarbus etanolio oksidacijos metu susidarancio acetaldehido metabolizmui, todėl ši ląstelių linija tinka alkoholio metabolizmo ir jo poveikio ląstelėms tyrimams. „Acetaldehido fiksavimo“ technikos taikymas šiose ląstelėse leidžia tiksliai išmatuoti ALDH2 aktyvumą be būtinybės izoliuoti mitochondrijas, o tai palengvina fermentų kinetikos tyrimus ir įvairių inhibitorių poveikio aldehido detoksikacijai analizę.

Organism

Žiurkės

Tissue

Kepenys

Disease

Hepatocelulinė karcinoma

Synonyms

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

Charakteristikos

Breed/Subspecies

AxC

Age

Nenustatyta

Gender

Vyras

Growth properties

Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation

H4-II-E-C3 (Cytion katalogo numeris 305336)

Biosafety level

1

H4-II-E-C3 ląstelės | 305336

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0285

GMO Status GMO-S1: Ši žiurkių kepenų ląstelių karcinomos ląstelių linija (H4-II-E-C3) turi neapibrėžtų modifikacijų, klasifikuojamų kaip GMO, kurios stabiliai egzistuoja transformuotoje kepenų ląstelių linijoje. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression Genų ekspresija: tirozino aminotransferazė, albuminas, transferinas, protrombinas

Tumorigenic Taip, AxC žiurkėse

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

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

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - -196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

H4-II-E-C3 ląstelės | 305336

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.