

Hep-74.3A ląstelės | 400208

Bendra informacija

Description

Hep-74.3 hepatomos ląstelių linija yra gauta iš pelių kepenų naviko, konkrečiai iš C3H/He pelių padermės. Šiai ląstelių linijai būdinga hepatocitinė kilmė, patvirtinta atlikus tarpinių gijų baltymų analizę. Hep-74.3 ekspresuoja paprastus keratinus K8 ir K18, kurie būdingi normalioms kepenų ląstelėms, taip pat įvairiu laipsniu vimentiną ir keratiną K19. Šie baltymų modeliai patvirtina hepatocitinį ląstelių linijos pobūdį ir jos priskyrimą hepatomos linijai.

Hep-74.3 ląstelių linijoje vyrauja epitelinė morfologija, rodanti jos kilmę iš hepatocitų. Šis morfologinis fenotipas atitinka jos baltymų raiškos profilį. Atlikus Hep-74.3 DNR pirštų atspaudų analizę, nenustatyta jokių didesnių struktūrinių pakitimų, o tai rodo tam tikrą genomo stabilumą. Tačiau, didėjant perėjimo skaičiui, pastebėti tam tikri tam tikrų juostų santykinio intensyvumo pokyčiai, o tai rodo nedidelį genomo kintamumą per ilgesnį auginimo laikotarpį.

Nepaisant to, kad pirminiuose pelių kepenų augliuose p53 mutacijų nebuvo aptikta, kai kuriose hepatomų linijose dauginimo in vitro metu buvo aptikta aberacijų. Hep-74.3 ląstelių linija buvo tiriama dėl p53 ir c-Ha-ras genų mutacijų. Tai, kad šioje linijoje ankstyvųjų pakopų metu p53 geno mutacijų neaptikta, rodo, kad genetinis fonas yra stabilus. Ši ląstelių linija yra vertingas modelis hepatocelulinei karcinomai tirti, leidžiantis suprasti ląstelių ir molekulinis mechanizmus, lemiančius kepenų navikus.

Organism

Pelė

Tissue

Kepenys

Disease

Hepatocelulinė karcinoma

Synonyms

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

Charakteristikos

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Suaugusiųjų

Gender

Moteris

Morphology

Į epitelį panašus

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Hep-74.3A ląstelės | 400208

Citation Hep-74.3A (Cytion katalogo numeris 400208)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5773

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression Keratinas 8, keratinas 18, vimentinas**Tumorigenic** Taip, C3H/HE pelėms**Mutational profile** P53 wt

Tvarkymas

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabilus glutaminas, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820600a)**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 perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 1×10^4 ląstelės/cm²**Fluid renewal** Kas 3-5 dienas**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Hep-74.3A ląstelės | 400208

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.

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 x 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.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Hep-74.3A ląstelės | 400208

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

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.