

H4-II-E-C3 šūnas | 305336

Vispārīga informācija

Description

H4-II-E-C3 šūnu līnija ir labi izpētīta žurku hepatomas šūnu līnija, kas iegūta no aknu karcinomas. Šo līniju plaši izmanto pētījumos, kas veltīti aknu specifiskajām funkcijām un metabolisma procesiem, kas norisinās hepatocītos. Viens no ievērojamiem H4-II-E-C3 šūnu aspektiem ir augsta afinitātes glutamāta transportētāja GLT-1A augsta ekspresija. Šī īpašība tās atšķir no normāliem žurku hepatocītiem, kuros šī transportētāja līmenis nav nozīmīgs. GLT-1A ekspresija H4-II-E-C3 šūnās ļauj efektīvi pētīt glutamāta metabolismu un transportu, sniedzot ieskatu aknu šūnu transformācijā un audzēja šūnu metabolismā.

Turklāt H4-II-E-C3 šūnas izmanto, lai pētītu aldehīdu metabolismu, jo īpaši mitohondriālās 2. klases aldehīda dehidrogenāzes (ALDH2) aktivitāti. Šis enzīms ir būtisks etanola oksidācijas procesā radušā acetaldehīda metabolizēšanai, tādējādi padarot šo šūnu līniju piemērotu pētījumiem par alkohola metabolismu un tā ietekmi uz šūnām. „Acetaldehīda skavas” metodes izmantošana šajās šūnās ir ļāvusi precīzi noteikt ALDH2 aktivitāti bez nepieciešamības izdalīt mitohondrijas, tādējādi atvieglojot fermentu kinētikas pētījumus un dažādu inhibitoru ietekmes uz aldehīdu detoksikāciju izpēti.

Organism

Žurkas

Tissue

Aknas

Disease

Hepatocelulārā karcinoma

Synonyms

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

Raksturojums

Breed/Subspecies

AxC

Age

Nav norādīts

Gender

Vīrieši

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

H4-II-E-C3 (Cytion kataloga numurs 305336)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

H4-II-E-C3 šūnas | 305336**CellosaurusAccession** CVCL_0285

GMO Status GMO-S1: Šī žurku aknu šūnu karcinomas šūnu līnija (H4-II-E-C3) satur nenoteiktas modifikācijas, kas klasificētas kā GMO un stabili atrodas transformētajā aknu šūnu līnijā. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression Gēnu ekspresija: tirozīna aminotransferāze, albumīns, transferīns, protrombīns

Tumorigenic Jā, AxC žurkām

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

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

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

H4-II-E-C3 šūnas | 305336

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.