

Hep-74.3A šūnas | 400208

Vispārīga informācija

Description

Hep-74.3 hepatomas šūnu līnija ir iegūta no peļu aknu audzēja, konkrēti no C3H/He peļu celma. Šai šūnu līnijai ir raksturīga hepatocītiska izcelsme, ko apstiprina starposma pavadieņu proteīnu analīze. Hep-74.3 ekspresē vienkāršos keratīnus K8 un K18, kas raksturīgi normālām aknu šūnām, kā arī vimentīnu un keratīnu K19 dažādās pakāpēs. Šie proteīnu modeļi apstiprina šūnu līnijas hepatocītisko raksturu un tās klasifikāciju kā hepatomas līniju.

Hep-74.3 šūnu līnijai ir pārsvarā epitēlija morfoloģija, kas atspoguļo tās izcelsmi no hepatocītiem. Šis morfoloģiskais fenotips atbilst tās proteīnu ekspresijas profilam. Hep-74.3 DNS pirkstu nospiedumu analīze neatklāja nekādas būtiskas strukturālas anomālijas, kas norāda uz zināmu genoma stabilitāti. Tomēr, palielinoties pasāžu skaitam, tika novērotas dažas izmaiņas konkrētu joslu relatīvajā intensitātē, kas liecina par nelielu genoma mainīgumu ilgāku kultūras periodu laikā.

Neskatoties uz to, ka primārajos peļu aknu audzējos nav konstatējamas p53 mutācijas, dažās hepatomu līnijās in vitro pavairošanas laikā tika konstatētas izmaiņas. Hep-74.3 šūnu līnija tika analizēta attiecībā uz mutācijām p53 un c-Ha-ras gēnos. Tas, ka šajā līnijā agrīno pasāžu laikā p53 gēna mutācijas nebija konstatējamas, liecina par stabilu ģenētisko fonu. Šī šūnu līnija kalpo kā vērtīgs modelis hepatocelulārās karcinomas izpētei, sniedzot ieskatu par šūnu un molekulārajiem mehānismiem, kas ir aknu audzēju rašanās pamatā.

Organism

Pele

Tissue

Aknas

Disease

Hepatocelulārā karcinoma

Synonyms

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

Raksturojums

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Pieaugušo

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Hep-74.3A šūnas | 400208

Citation Hep-74.3A (Cytion kataloga numurs 400208)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5773**Biomolekulārie dati****Protein expression** Keratīns 8, keratīns 18, vimentīns**Tumorigenic** Jā, C3H/HE pelēm**Mutational profile** P53 wt**Darbs ar****Culture Medium** Hama F12, w: 1,0 mM stabils glutamīns, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820600a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt 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 pārklājat 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** 1×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** Ik pēc 3 līdz 5 dienām**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Hep-74.3A šūnas | 400208

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 atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$ 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.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Hep-74.3A šūnas | 400208

Freezing Procedure

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

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

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

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