

Hep-70.4 Cellen | 400207

Algemene informatie

Description

De hepatoomcellijn Hep-70.4 is afgeleid van een levertumor bij muizen, specifiek van de C57BL/6J muizenstam. Deze cellijn valt op door de mutaties in het p53-gen, die werden geïdentificeerd bij verschillende passages tijdens in vitro vermeerdering. Bij passage nummer 8 werd een zwak extra signaal gedetecteerd in de SSCP-analyse (single-strand conformation polymorphism), wat duidt op de aanwezigheid van een p53-mutatie. Bij passage nummer 38 werden twee verschillende p53 puntmutaties geïdentificeerd: een G:C naar C:G transversie bij codon 135 en een C:G naar G:C transversie bij codon 138 van exon 5. Deze mutaties leidden tot aminozuurveranderingen in het aminozuur van het exon. Deze mutaties leidden tot aminozuurveranderingen van respectievelijk alanine naar proline en cysteïne naar tryptofaan.

De Hep-70.4 cellijn vertoont een morfologisch fenotype dat aanzienlijk varieert tijdens de vermeerdering. Sommige sublijnen vertonen een epitheliale morfologie, terwijl andere een fibroblastachtig uiterlijk hebben. Deze heterogeniteit weerspiegelt de complexe aard van de cellijn en zijn aanpassingsvermogen onder verschillende kweekomstandigheden. De aanwezigheid van zowel normale als gemuteerde p53-allelen in de eerste passages suggereert dat de mutaties een selectief groeivoordeel geven, waardoor gemuteerde klonen na verloop van tijd overheersen.

Intermediate filament protein analysis of the Hep-70.4 cell line revealed the expression of simple keratins K8 and K18, which are typical of normal liver cells, as well as vimentin and keratin K19 to varying degrees. Deze eiwitpatronen bevestigen de hepatocytische oorsprong van de cellijn en de classificatie als hepatoomlijn. De genomische stabiliteit van Hep-70.4 werd verder beoordeeld door middel van DNA fingerprint analyse, die geen belangrijke structurele afwijkingen liet zien, hoewel veranderingen in de relatieve intensiteit van bepaalde banden werden waargenomen met toenemende passage aantallen.

Organism Muis

Tissue Lever

Disease Hepatocellulair carcinoom

Synonyms HEP-70.4, 70.4

Kenmerken

Breed/Subspecies C57BL/6J

Age Volwassen

Gender Vrouw

Morphology Epitheelachtig

Hep-70.4 Cellen | 400207

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation Hep-70.4 (Cytion catalogusnummer 400207)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5772

Biomoleculaire gegevens

Tumorigenic Ja, in C3H/He muizen

Mutational profile P53

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeran bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen

Seeding density 1×10^4 cellen/cm²

Hep-70.4 Cellen | 400207

Fluid renewal Om de 3 tot 5 dagen

Post-Thaw Recovery Laat de cellen minstens 24 tot 48 uur herstellen.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating Geen

Hep-70.4 Cellen | 400207

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

M_18-3: 18
M_4-2: 21.3
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 12
M_7-1: 26,27
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: -