

H4-II-E-C3-celler | 305336

Generell informasjon

Description

H4-II-E-C3-cellelinjen er en veletablert hepatomcellelinje fra rotte, avledet fra leverkarsinom. Denne cellelinjen brukes i stor utstrekning i forskning som fokuserer på leverspesifikke funksjoner og de metabolske prosessene som foregår i hepatocytter. Et bemerkelsesverdig trekk ved H4-II-E-C3-cellene er deres høye uttrykk av glutamatttransportøren GLT-1A med høy affinitet. Dette kjennetegnet skiller dem fra normale hepatocytter fra rotte, som ikke viser signifikante nivåer av denne transportøren. Ekspresjonen av GLT-1A i H4-II-E-C3-celler muliggjør effektiv undersøkelse av glutamatmetabolisme og -transport, noe som gir innsikt i levercellers transformasjon og tumorcellers metabolisme.

I tillegg brukes H4-II-E-C3-celler til å studere aldehydmetabolismen, særlig aktiviteten til mitokondriell klasse 2-aldehyddehydrogenase (ALDH2). Dette enzymet er avgjørende for metaboliseringen av acetaldehyd som produseres under etanoloksidasjon, noe som gjør denne cellelinjen egnet for forskning på alkoholmetabolisme og dens cellulære effekter. Bruken av en «acetaldehyd-clamp»-teknikk i disse cellene har gjort det mulig å foreta presise målinger av ALDH2-aktiviteten uten behov for isolering av mitokondrier, noe som letter studiet av enzymkinetikk og virkningen av ulike hemmere på aldehydavgiftning.

Organism

Rotte

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulært karsinom

Synonyms

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

Kjennetegn

Breed/Subspecies

AxC

Age

Uspesifisert

Gender

Mann

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

H4-II-E-C3 (Cytion-katalognummer 305336)

Biosafety level

1

H4-II-E-C3-celler | 305336

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0285

GMO Status GMO-S1: Denne cellelinjen fra hepatocellulært karsinom hos rotte (H4-II-E-C3) inneholder udefinerte modifikasjoner som er klassifisert som GMO, og som er stabilt til stede i den transformerte levercellelinjen. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression Genuttrykk: tyrosinaminotransferase, albumin, transferrin, protrombin

Tumorigenic Ja, hos AxC-rotter

Håndtering

Culture Medium DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

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

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

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

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekyllær analyse

H4-II-E-C3-celler | 305336

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.