

Hep-74.3A-celler | 400208

Generell informasjon

Description

Hep-74.3 hepatomcellelinjen er avledet fra en leversvulst fra mus, nærmere bestemt fra C3H/He-musestammen. Denne cellelinjen er karakterisert ved at den har hepatocytisk opprinnelse, noe som er bekreftet gjennom analyse av intermediære filamentproteiner. Hep-74.3 uttrykker de enkle keratinene K8 og K18, som er typiske for normale leverceller, samt vimentin og keratin K19 i varierende grad. Disse proteinmønstrene bekrefter cellelinjens hepatocytiske natur og klassifiseringen som en hepatomlinje.

Hep-74.3-cellelinjen har en overveiende epitelial morfologi, noe som gjenspeiler dens opprinnelse fra hepatocytter. Denne morfologiske fenotypen stemmer overens med proteinuttryksprofilen. DNA-fingeravtryksanalyse av Hep-74.3 avslørte ingen større strukturelle abnormiteter, noe som indikerer en viss genomisk stabilitet. Det ble imidlertid observert noen endringer i den relative intensiteten av spesifikke bånd med økende passasjeantall, noe som tyder på mindre genomisk variasjon over lengre dyrkingsperioder.

Til tross for fraværet av påvisbare p53-mutasjoner i de primære museleversvulstene, ble det funnet avvik i noen hepatomlinjer under in vitro-oppformering. Hep-74.3-cellelinjen ble analysert for mutasjoner i p53- og c-Ha-ras-genene. Fraværet av påvisbare mutasjoner i p53-genet i denne cellelinjen under tidlige passeringer tyder på en stabil genetisk bakgrunn. Denne cellelinjen er en verdifull modell for studier av hepatocellulært karsinom, og gir innsikt i de cellulære og molekylære mekanismene som ligger til grunn for tumorgenese i leveren.

Organism

Mus

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulært karsinom

Synonyms

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

Kjennetegn

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Voksen

Gender

Kvinne

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Hep-74.3A-celler | 400208

Citation Hep-74.3A (Cytion katalognummer 400208)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5773

Biomolekylære data

Protein expression Keratin 8, keratin 18, vimentin

Tumorigenic Ja, hos C3H/HE-mus

Mutational profile P53 wt

Håndtering

Culture Medium Ham's F12, m: 1,0 mM stabil glutamin, m: 1,0 mM natriumpyruvat, m: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820600a)

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, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal Hver 3. til 5. dag

Hep-74.3A-celler | 400208

Post-Thaw Recovery

Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

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 osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

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 x 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 % CO₂, befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Hep-74.3A-celler | 400208

Freezing Procedure

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.

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 / Genetisk profil / HLA

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.

STR-profil

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
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: -