

Hep-70.4-celler | 400207

Generell informasjon

Description

Hep-70.4 hepatomcellelinjen er avledet fra en leversvulst fra mus, nærmere bestemt fra musestammen C57BL/6J. Denne cellelinjen er kjent for sine mutasjoner i p53-genet, som ble identifisert ved forskjellige passeringer under in vitro-oppformering. Ved passasje nummer 8 ble det oppdaget et svakt tilleggssignal i SSCP-analysen (single-strand conformation polymorphism), noe som indikerte tilstedeværelsen av en p53-mutasjon. Ved passasje nummer 38 ble det identifisert to forskjellige punktmutasjoner i p53: en G:C til C:G-transversjon ved kodon 135 og en C:G til G:C-transversjon ved kodon 138 i ekson 5. Disse mutasjonene førte til aminosyreendringer fra henholdsvis alanin til prolin og cystein til tryptofan.

Hep-70.4-cellelinjen viser en morfologisk fenotype som varierer betydelig i løpet av formeringen. Noen sublinjer viser en epitel-morfologi, mens andre har et fibroblastlignende utseende. Denne heterogeniteten gjenspeiler cellelinjens komplekse natur og dens tilpasningsevne under ulike dyrkingsforhold. Tilstedeværelsen av både normale og muterte p53-alleler i de tidlige passasjene tyder på at mutasjonene gir en selektiv vekstfordel, noe som fører til en overvekt av muterte kloner over tid.

Analyse av intermedieære filamentproteiner i Hep-70.4-cellelinjen avslørte uttrykk av 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 opprinnelse og klassifiseringen som en hepatomlinje. Den genomiske stabiliteten til Hep-70.4 ble videre vurdert ved hjelp av DNA-fingeravtryksanalyse, som ikke avslørte noen større strukturelle abnormiteter, selv om det ble observert endringer i den relative intensiteten til enkelte bånd med økende passasjeantall.

Organism	Mus
Tissue	Lever
Disease	Hepatocellulært karsinom
Synonyms	HEP-70.4, 70.4

Kjennetegn

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Voksen
Gender	Kvinne
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

Hep-70.4-celler | 400207

Regulatoriske data

Citation	Hep-70.4 (Cytion katalognummer 400207)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5772

Biomolekylære data

Tumorigenic	Ja, hos C3H/He-mus
Mutational profile	P53

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , 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, resuspendere 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 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	Hver 3. til 5. dag

Hep-70.4-celler | 400207

Post-Thaw Recovery La cellene restituere seg i minst 24 til 48 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 osmokeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Hep-70.4-celler | 400207

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: 26,27
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: -