

Komórki H4-II-E-C3 | 305336

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa H4-II-E-C3 to dobrze znana linia komórkowa wątrobiaka szczura, wyhodowana z raka wątroby. Linia ta jest szeroko stosowana w badaniach dotyczących funkcji specyficznych dla wątroby oraz procesów metabolicznych zachodzących w hepatocytach. Jedną z istotnych cech komórek H4-II-E-C3 jest wysoka ekspresja transportera glutaminianu o wysokim powinowactwie GLT-1A. Cecha ta odróżnia je od prawidłowych hepatocytów szczurzych, które nie wykazują znaczącego poziomu tego transportera. Ekspresja GLT-1A w komórkach H4-II-E-C3 umożliwia skuteczne badanie metabolizmu i transportu glutaminianu, dostarczając informacji na temat transformacji komórek wątroby oraz metabolizmu komórek nowotworowych.

Ponadto komórki H4-II-E-C3 są wykorzystywane do badania metabolizmu aldehydów, a w szczególności aktywności mitochondrialnej dehydrogenazy aldehydowej klasy 2 (ALDH2). Enzym ten odgrywa kluczową rolę w metabolizmie acetaldehydu powstającego podczas utleniania etanolu, dzięki czemu ta linia komórkowa nadaje się do badań nad metabolizmem alkoholu i jego skutkami komórkowymi. Zastosowanie w tych komórkach techniki „acetaldehydowego clampu” umożliwiło precyzyjny pomiar aktywności ALDH2 bez konieczności izolacji mitochondriów, ułatwiając badanie kinetyki enzymu oraz wpływu różnych inhibitorów na detoksykację aldehydów.

Organism

Szczur

Tissue

Wątroba

Disease

Rak wątrobowokomórkowy

Synonyms

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

Charakterystyka

Breed/Subspecies

AxC

Age

Nieokreślony

Gender

Męczyzna

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

H4-II-E-C3 (numer katalogowy Cytion 305336)

Biosafety level

1

Komórki H4-II-E-C3 | 305336

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0285

GMO Status GMO-S1: Ta linia komórkowa raka wątrobowokomórkowego szczura (H4-II-E-C3) zawiera nieokreślone modyfikacje sklasyfikowane jako GMO, które są stabilnie obecne w tej transformowanej linii komórkowej wątroby. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression Ekspresja genów: aminotransferaza tyrozynowa, albumina, transferyna, protrombina

Tumorigenic Tak, u szczurów AxC

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzuppełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

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

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki H4-II-E-C3 | 305336

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.