

Komórki H-4-II-E | 305204

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa H-4-II-E jest linią komórkową pochodzącą z wątroby, opracowaną specjalnie z tkanki wątroby dorosłego szczura. Ta linia komórkowa jest często wykorzystywana w badaniach nad fizjologią i patologią wątroby, szczególnie w badaniach związanych z rakiem wątrobowokomórkowym i metabolizmem wątroby. Komórki H-4-II-E mają morfologię podobną do nabłonka i są znane z szybkiego tempa wzrostu i wysokiej gęstości komórek, co czyni je cennym modelem do badań przesiewowych o wysokiej wydajności i badań toksykologicznych.

Warto zauważyć, że komórki H-4-II-E wykazują kilka zróżnicowanych funkcji hepatocytów, w tym wydzielanie albuminy, produkcję amoniaku i obecność enzymów cytochromu P450. To czyni je doskonałym narzędziem do badania metabolizmu leków, indukcji enzymów i interakcji, które mogą występować w chorobach wątroby u ludzi. Co więcej, komórki te zostały wykorzystane do zbadania mechanizmów regeneracji wątroby i progresji raka, zapewniając wgląd w odpowiedzi komórkowe na różne bodźce, takie jak cytokiny i czynniki wzrostu.

Organism

Szczur

Tissue

Wątroba

Disease

Rak wątrobowokomórkowy szczura

Synonyms

H-4-II-E, H4IIE

Charakterystyka

Breed/Subspecies

AxC

Gender

Męczyzna

Morphology

Nabłonek

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

H-4-II-E (numer katalogowy Cytion 305204)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

Komórki H-4-II-E | 305204

CellosaurusAccession CVCL_0284

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń 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. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1:2 do 1:4
Seeding density	2 do 4 x 10 ⁴ komórek/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 H-4-II-E | 305204

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 H-4-II-E | 305204

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.