

## Komórki Hep-70.4 | 400207

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórek wątrobiaka Hep-70.4 pochodzi z guza wątroby myszy, w szczególności ze szczepu myszy C57BL/6J. Ta linia komórkowa wyróżnia się mutacjami w genie p53, które zostały zidentyfikowane w różnych pasażach podczas rozmnażania in vitro. Przy przejściu numer 8 wykryto słaby dodatkowy sygnał w analizie polimorfizmu konformacji pojedynczej nici (SSCP), wskazujący na obecność mutacji p53. Do pasażowania numer 38 zidentyfikowano dwie różne mutacje punktowe p53: konwersję G:C do C:G w kodonie 135 i konwersję C:G do G:C w kodonie 138 eksonu 5. Mutacje te doprowadziły do zmiany aminokwasów odpowiednio z alaniny na prolinę i cysteiny na tryptofan.

Linia komórkowa Hep-70.4 wykazuje fenotyp morfologiczny, który zmienia się znacząco podczas jej rozmnażania. Niektóre podlinie wykazują morfologię nabłonkową, podczas gdy inne wykazują wygląd podobny do fibroblastów. Ta heterogeniczność odzwierciedla złożoną naturę linii komórkowej i jej zdolność adaptacji w różnych warunkach hodowli. Obecność zarówno normalnych, jak i zmutowanych alleli p53 we wczesnych pasażach sugeruje, że mutacje zapewniają selektywną przewagę wzrostu, prowadząc z czasem do przewagi zmutowanych klonów.

Analiza białek włókien pośrednich linii komórkowej Hep-70.4 ujawniła ekspresję prostych keratyn K8 i K18, które są typowe dla prawidłowych komórek wątroby, a także wimentyny i keratyny K19 w różnym stopniu. Te wzorce białkowe potwierdzają hepatocytarne pochodzenie linii komórkowej i jej klasyfikację jako linii hepatoma. Stabilność genomowa Hep-70.4 była dalej oceniana poprzez analizę odcisków palców DNA, która nie ujawniła żadnych poważnych nieprawidłowości strukturalnych, chociaż zaobserwowano zmiany we względnej intensywności niektórych pasm wraz ze wzrostem liczby pasaży.

## Organism

Mysz

## Tissue

Wątroba

## Disease

Rak wątrobowokomórkowy

## Synonyms

HEP-70.4, 70.4

## Charakterystyka

## Breed/Subspecies

C57BL/6J

## Age

Dorośli

## Gender

Kobieta

## Morphology

Podobny do nabłonka

## Growth properties

Adherent

## Komórki Hep-70.4 | 400207

## Dane regulacyjne

<b>Citation</b>	Hep-70.4 (numer katalogowy Cytion 400207)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5772

## Dane biomolekularne

<b>Tumorigenic</b>	Tak, u myszy C3H/He
<b>Mutational profile</b>	P53

## Obsługa

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Split ratio</b>	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ komórek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Co 3 do 5 dni

## Komórki Hep-70.4 | 400207

### Post-Thaw Recovery

Pozostawić komórki do regeneracji przez co najmniej 24 do 48 godzin.

### 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.

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 mieszalinę 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 zawieszonych, 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

## Komórki Hep-70.4 | 400207

### Freezing Procedure

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.

### Profil STR

**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:** -