

## Hep-74.3A-celler | 400208

## Allmän information

## Description

Hepatocellinjen Hep-74.3 härrör från en levertumör från mus, specifikt från C3H/He-musstammen. Denna cellinje kännetecknas av sitt hepatocytiska ursprung, vilket bekräftas genom analys av intermediära filamentproteiner. Hep-74.3 uttrycker enkla keratiner K8 och K18, som är typiska för normala leverceller, samt vimentin och keratin K19 i varierande grad. Dessa proteinmönster bekräftar cellinjens hepatocytiska natur och dess klassificering som en hepatocellinje.

Hep-74.3-cellinjen uppvisar en övervägande epitelial morfologi, vilket återspeglar dess ursprung från hepatocyter. Denna morfologiska fenotyp överensstämmer med dess proteinuttrycksprofil. DNA-fingeravtrycksanalys av Hep-74.3 avslöjade inga större strukturella avvikelser, vilket tyder på en viss genomisk stabilitet. Vissa förändringar i de relativa intensiteterna för specifika band observerades dock med ökande passagenummer, vilket tyder på mindre genomisk variabilitet under längre odlingsperioder.

Trots att det inte fanns några påvisbara p53-mutationer i de primära levertumörerna hos möss, upptäcktes avvikelser i vissa hepatocellinjer under in vitro -föroknig. Cellinjen Hep-74.3 analyserades med avseende på mutationer i generna p53 och c-Ha-ras. Avsaknaden av påvisbara mutationer i p53-genen i denna linje under tidiga passager tyder på en stabil genetisk bakgrund. Denna cellinje fungerar som en värdefull modell för att studera hepatocellulärt karcinom och ger insikter i de cellulära och molekylära mekanismer som ligger bakom tumöruppkomst i levern.

**Organism** Mus

**Tissue** Lever

**Disease** Hepatocellulärt karcinom

**Synonyms** Hep-74.3, HEP-74.3a, 74.3A, 74.3a

## Egenskaper

**Breed/Subspecies** C57BL/6J

**Age** Vuxen

**Gender** Kvinna

**Morphology** Epitelliknande

**Growth properties** Följsam

## Lagstadgade uppgifter

## Hep-74.3A-celler | 400208

**Citation** Hep-74.3A (Cytion katalognummer 400208)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5773**Biomolekylära data****Protein expression** Keratin 8, Keratin 18, Vimentin**Tumorigenic** Ja, i C3H/HE-möss**Mutational profile** P53 wt**Hantering****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilt glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820600a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:4 till 1:8 rekommenderas**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Var 3:e till 5:e dag

## Hep-74.3A-celler | 400208

### Post-Thaw Recovery

Efter upptining, plattlägg cellerna med  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

### Freeze medium

Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, befuktad atmosfär.

### Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

## Hep-74.3A-celler | 400208

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma kontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

### 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:** -