

Hep-70.4-celler | 400207

Allmän information

Description

Hepatocellinjen Hep-70.4 härrör från en levertumör från en mus, närmare bestämt från musstammen C57BL/6J. Denna cellinje är anmärkningsvärd för sina mutationer i p53-genen, vilka identifierades vid olika passager under in vitro-förökning. Vid passage nummer 8 upptäcktes en svag tilläggssignal i SSCP-analysen (single-strand conformation polymorphism), vilket indikerade förekomsten av en p53-mutation. Vid passage nummer 38 identifierades två distinkta punktmutationer i p53: en G:C till C:G-transversion vid kodon 135 och en C:G till G:C-transversion vid kodon 138 i exon 5. Dessa mutationer ledde till aminosyraförändringar från alanin till prolin respektive cystein till tryptofan.

Cellinjen Hep-70.4 uppvisar en morfologisk fenotyp som varierar avsevärt under dess spridning. Vissa sublinjer uppvisar en epitelial morfologi, medan andra uppvisar ett fibroblastliknande utseende. Denna heterogenitet återspeglar cellinjens komplexa natur och dess anpassningsförmåga under olika odlingsförhållanden. Förekomsten av både normala och muterade p53-alleler i de tidiga passagerna tyder på att mutationerna ger en selektiv tillväxtfördel, vilket leder till en övervikt av muterade kloner med tiden.

Proteinanalys av intermediära filament i cellinjen Hep-70.4 visade uttryck av enkla keratiner K8 och K18, som är typiska för normala leverceller, samt vimentin och keratin K19 i varierande grad. Dessa proteinmönster bekräftar cellinjens hepatocytiska ursprung och dess klassificering som en hepatocellinje. Den genomiska stabiliteten hos Hep-70.4 utvärderades ytterligare genom DNA-fingeravtrycksanalys, som inte avslöjade några större strukturella avvikelser, även om förändringar i den relativa intensiteten hos vissa band observerades med ökande passageantal.

Organism	Mus
Tissue	Lever
Disease	Hepatocellulärt karcinom
Synonyms	HEP-70.4, 70.4

Egenskaper

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Vuxen
Gender	Kvinna
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Följsam

Hep-70.4-celler | 400207

Lagstadgade uppgifter

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

Biomolekylära data

Tumorigenic	Ja, i C3H/He-möss
Mutational profile	P53

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
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 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	Var 3:e till 5:e dag

Hep-70.4-celler | 400207

Post-Thaw Recovery

Låt cellerna återhämta sig i minst 24 till 48 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 djupfryst 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 flödeshuv 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 $300 \times g$ 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-kulturkanter; 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

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

Hep-70.4-celler | 400207

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: 26,27
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: -