

Hep-70.4 Hücreleri | 400207

Genel bilgi

Description

Hep-70.4 hepatoma hücre hattı bir fare karaciğer tümöründen, özellikle de C57BL/6J fare suşundan türetilmiştir. Bu hücre hattı, in vitro çoğaltma sırasında farklı pasajlarda tanımlanan p53 genindeki mutasyonlarıyla dikkat çekmektedir. Pasaj sayısı 8'de, tek sarmal konformasyon polimorfizmi (SSCP) analizinde bir p53 mutasyonunun varlığını gösteren zayıf bir ek sinyal tespit edilmiştir. 38 numaralı pasajda, iki farklı p53 nokta mutasyonu tanımlanmıştır: kodon 135'te G:C'den C:G'ye dönüşüm ve ekzon 5'in kodon 138'inde C:G'den G:C'ye dönüşüm. Bu mutasyonlar sırasıyla alaninden proline ve sisteinden triptofana amino asit değişikliklerine yol açmıştır.

Hep-70.4 hücre hattı, yayılımı sırasında önemli ölçüde değişen morfolojik bir fenotip sergilemektedir. Bazı alt hatlar epitelyal bir morfoloji sergilerken, diğerleri fibroblast benzeri bir görünüm sergiler. Bu heterojenlik, hücre hattının karmaşık yapısını ve farklı kültür koşulları altındaki adaptasyon kabiliyetini yansıtmaktadır. Erken pasajlarda hem normal hem de mutasyona uğramış p53 alellerinin varlığı, mutasyonların seçici bir büyüme avantajı sağladığını ve zamanla mutasyona uğramış klonların baskın hale gelmesine yol açtığını düşündürmektedir.

Hep-70.4 hücre hattının ara filament protein analizi, normal karaciğer hücreleri için tipik olan basit keratin K8 ve K18'in yanı sıra vimentin ve keratin K19'un değişen derecelerde ekspresyonunu ortaya çıkarmıştır. Bu protein modelleri hücre hattının hepatositik kökenini ve hepatoma hattı olarak sınıflandırılmasını doğrulamaktadır. Hep-70.4'ün genomik stabilitesi DNA parmak izi analizi ile değerlendirilmiş ve artan pasaj sayıları ile belirli bantların göreceli yoğunluklarında değişiklikler gözlenmesine rağmen herhangi bir önemli yapısal anormallik ortaya çıkmamıştır.

Organism

Fare

Tissue

Karaciğer

Disease

Hepatoselüler karsinom

Synonyms

HEP-70.4, 70.4

Özellikler

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Yetişkin

Gender

Kadın

Morphology

Epitel benzeri

Growth properties

Yapışık

Hep-70.4 Hücreleri | 400207

Düzenleyici Veriler

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

Biyomoleküler Veriler

Tumorigenic	Evet, C3H/He farelerinde
Mutational profile	P53

Elleçleme

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansetmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanset edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Seeding density	1 x 10 ⁴ hücre/cm ²
Fluid renewal	Her 3 ila 5 günde bir
Post-Thaw Recovery	Hücrelerin en az 24 ila 48 saat boyunca iyileşmesine izin verin.

Hep-70.4 Hücreleri | 400207

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Product sheet

Hep-70.4 Hücreleri | 400207

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.