

## Tế bào Hep-70.4 | 400207

## Thông tin chung

## Description

Dòng tế bào ung thư gan Hep-70.4 được phân lập từ một khối u gan của chuột, cụ thể là từ dòng chuột C57BL/6J. Dòng tế bào này nổi bật với các đột biến trong gen p53, được phát hiện ở các giai đoạn khác nhau trong quá trình nuôi cấy in vitro. Tại giai đoạn nuôi cấy số 8, một tín hiệu yếu bổ sung được phát hiện trong phân tích đa hình cấu trúc đơn sợi (SSCP), cho thấy sự hiện diện của đột biến p53. Tại lần nhân giống thứ 38, hai đột biến điểm p53 riêng biệt đã được xác định: một đột biến chuyển đổi G:C thành C:G tại codon 135 và một đột biến chuyển đổi C:G thành G:C tại codon 138 của exon 5. Các đột biến này dẫn đến sự thay đổi axit amin từ alanine thành proline và từ cysteine thành tryptophan, tương ứng.

Dòng tế bào Hep-70.4 thể hiện một biểu hiện hình thái học thay đổi đáng kể trong quá trình nhân lên. Một số dòng con có hình thái biểu mô, trong khi những dòng khác có hình thái tương tự tế bào sợi. Sự đa dạng này phản ánh bản chất phức tạp của dòng tế bào và khả năng thích nghi của nó dưới các điều kiện nuôi cấy khác nhau. Sự hiện diện của cả alen p53 bình thường và đột biến trong các lần nhân lên ban đầu cho thấy các đột biến mang lại lợi thế tăng trưởng chọn lọc, dẫn đến sự chiếm ưu thế của các dòng đột biến theo thời gian.

Phân tích protein sợi trung gian của dòng tế bào Hep-70.4 cho thấy sự biểu hiện của các keratin đơn giản K8 và K18, đặc trưng cho tế bào gan bình thường, cũng như vimentin và keratin K19 ở mức độ khác nhau. Các mẫu protein này xác nhận nguồn gốc tế bào gan của dòng tế bào và phân loại nó là dòng tế bào ung thư gan. Sự ổn định gen của Hep-70.4 được đánh giá thêm thông qua phân tích dấu vân tay DNA, không phát hiện bất kỳ bất thường cấu trúc lớn nào, mặc dù có sự thay đổi về cường độ tương đối của một số dải khi số lần truyền tăng lên.

<b>Organism</b>	Chuột
<b>Tissue</b>	Gan
<b>Disease</b>	Ung thư tế bào gan
<b>Synonyms</b>	HEP-70.4, 70.4

## Đặc điểm

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Người lớn
<b>Gender</b>	Nữ
<b>Morphology</b>	Tương tự biểu mô
<b>Growth properties</b>	Người tuân thủ

## Tế bào Hep-70.4 | 400207

## Dữ liệu quy định

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

## Dữ liệu sinh học phân tử

<b>Tumorigenic</b>	Đúng, ở chuột C3H/He
<b>Mutational profile</b>	P53

## Xử lý

<b>Culture Medium</b>	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ tế bào/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Mỗi 3 đến 5 ngày
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Cho phép các tế bào phục hồi trong ít nhất 24 đến 48 giờ.

## Tế bào Hep-70.4 | 400207

**Freeze medium**

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới  $-150^{\circ}\text{C}$  để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước  $37^{\circ}\text{C}$  với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , môi trường ẩm.

**Flask Coating**

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

## Tế bào Hep-70.4 | 400207

### Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

### Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

### Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng  $-150$  đến  $-196^{\circ}\text{C}$ . Việc bảo quản ở  $-80^{\circ}\text{C}$  chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

## Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

### Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.