Hep-70.4

400207

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

Die Hep-70.4 Hepatom-Zelllinie stammt von einem Lebertumor der Maus, genauer gesagt vom Mausstamm C57BL/6J. Diese Zelllinie zeichnet sich durch Mutationen im p53-Gen aus, die bei verschiedenen Passagen während der In-vitro-Vermehrung festgestellt wurden. Bei Passage Nummer 8 wurde in der Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse (SSCP) ein schwaches zusätzliches Signal festgestellt, das auf das Vorhandensein einer p53-Mutation hinweist. Bei Passage Nummer 38 wurden zwei verschiedene p53-Punktmutationen identifiziert: eine G:C-zu-C:G-Transversion am Codon 135 und eine C:G-zu-G:C-Transversion am Codon 138 von Exon 5. Diese Mutationen führten zu einem Aminosäurewechsel von Alanin zu Prolin bzw. von Cystein zu Tryptophan.
Die Hep-70.4-Zelllinie weist einen morphologischen Phänotyp auf, der während ihrer Vermehrung stark variiert. Einige Sublinien weisen eine epitheliale Morphologie auf, während andere ein fibroblastenähnliches Erscheinungsbild zeigen. Diese Heterogenität spiegelt die komplexe Natur der Zelllinie und ihre Anpassungsfähigkeit unter verschiedenen Kulturbedingungen wider. Das Vorhandensein sowohl normaler als auch mutierter p53-Allele in den frühen Passagen deutet darauf hin, dass die Mutationen einen selektiven Wachstumsvorteil verschaffen, der im Laufe der Zeit zur Dominanz der mutierten Klone führt.
Die Analyse der Intermediärfilament-Proteine der Hep-70.4-Zelllinie ergab die Expression der einfachen Keratine K8 und K18, die für normale Leberzellen typisch sind, sowie von Vimentin und Keratin K19 in unterschiedlichem Ausmaß. Diese Proteinmuster bestätigen den hepatozytären Ursprung der Zelllinie und ihre Klassifizierung als Hepatom-Linie. Die genomische Stabilität von Hep-70.4 wurde außerdem durch eine DNA-Fingerprint-Analyse bewertet, die keine größeren strukturellen Anomalien ergab, obwohl mit zunehmender Passagezahl Veränderungen in der relativen Intensität bestimmter Banden beobachtet wurden.

Gewebe	Leber
Krankheit	Hepatozelluläres Karzinom

Synonyme

- HEP-70.4
- 70.4

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Maus
Sex	Weiblich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
Biologische Sicherheitsstufe	1

MERKMALE

Morphologie	Epithelähnlich
Tumorauslösend	Ja, bei C3H/He-Mäusen

BEZEICHNER

Quellenangabe

Hep-70.4 (Cytion Katalognummer 400207)

NCBI-Steuer-ID	10090
Cellosaurus	CVCL_5772

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Mutationsprofil

P53

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Aussaatdichte	1 x 10^4 Zellen/cm^2
Flüssigkeitswechsel	Alle 3 bis 5 Tage
Erholung nach dem Auftauen	Lassen Sie die Zellen mindestens 24 bis 48 Stunden lang ruhen.

Auftauen und Kultivierung

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Rasse / Unterart	C57BL/6J
Alter des Spenders	Erwachsener

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Haftungsausschluss

Unsere Zellen werden ausschließlich für In-vitro-Laborforschungszwecke zur Verfügung gestellt und sind nicht für den klinischen oder diagnostischen Gebrauch bestimmt. Sie dürfen auch nicht an Menschen verabreicht oder für tierärztliche Zwecke verwendet werden. Die Nutzer müssen alle geltenden Richtlinien und Vorschriften für die Handhabung und Verwendung dieser Zellen in der Forschung einhalten.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Materialübertragungsvereinbarung erforderlich	Yes