Hep-70.4

400207

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

La linea cellulare di epatoma Hep-70.4 deriva da un tumore epatico di topo, in particolare dal ceppo di topo C57BL/6J. Questa linea cellulare si distingue per le mutazioni nel gene p53, identificate a diversi passaggi durante la propagazione in vitro. Al passaggio numero 8, è stato rilevato un debole segnale aggiuntivo nell'analisi del polimorfismo di conformazione a singolo filamento (SSCP), che indica la presenza di una mutazione p53. Al passaggio numero 38, sono state identificate due distinte mutazioni puntiformi di p53: una trasversione da G:C a C:G al codone 135 e una trasversione da C:G a G:C al codone 138 dell'esone 5. Queste mutazioni hanno comportato la formazione di aminoacidi in una delle due parti. Queste mutazioni hanno portato a cambiamenti aminoacidici, rispettivamente da alanina a prolina e da cisteina a triptofano.
La linea cellulare Hep-70.4 mostra un fenotipo morfologico che varia significativamente durante la sua propagazione. Alcune sottolinee presentano una morfologia epiteliale, mentre altre mostrano un aspetto simile a quello dei fibroblasti. Questa eterogeneità riflette la natura complessa della linea cellulare e la sua adattabilità a diverse condizioni di coltura. La presenza di alleli p53 sia normali che mutati nei primi passaggi suggerisce che le mutazioni conferiscono un vantaggio selettivo alla crescita, portando alla predominanza di cloni mutati nel tempo.
L'analisi delle proteine dei filamenti intermedi della linea cellulare Hep-70.4 ha rivelato l'espressione delle cheratine semplici K8 e K18, tipiche delle cellule epatiche normali, nonché della vimentina e della cheratina K19 in misura variabile. Questi pattern proteici confermano l'origine epatocitaria della linea cellulare e la sua classificazione come linea di epatoma. La stabilità genomica di Hep-70.4 è stata ulteriormente valutata attraverso l'analisi del DNA fingerprint, che non ha rivelato alcuna anomalia strutturale di rilievo, sebbene siano state osservate variazioni nell'intensità relativa di alcune bande con l'aumento del numero di passaggi.

Tessuto	Fegato
Malattia	Carcinoma epatocellulare

Sinonimi

- HEP-70.4
- 70.4

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Mouse
Sesso	Donna
Proprietà di crescita	Aderente
Livello di biosicurezza	1

CARATTERISTICHE

Morfologia	Simile all'epitelio
Tumorigenico	Sì, nei topi C3H/He

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

Hep-70.4 (numero di catalogo Cytion 400207)

Codice fiscale NCBI	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

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Profilo mutazionale

P53

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO3, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Densità di semina	1 x 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	Ogni 3-5 giorni
Recupero post-scongelamento	Lasciare che le cellule si riprendano per almeno 24-48 ore.

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Razza / sottospecie	C57BL/6J
Età dei donatori	Adulti

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Dichiarazione di non responsabilità

Le nostre cellule sono fornite esclusivamente per scopi di ricerca di laboratorio in vitro e non sono destinate all'uso clinico o diagnostico, né devono essere somministrate all'uomo o utilizzate per scopi veterinari. Gli utenti devono attenersi a tutte le linee guida e le normative applicabili per la manipolazione e l'uso di queste cellule in un contesto di ricerca.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

È richiesto un accordo di trasferimento di materiale	Yes