# Hep-70.4

400207

## GENERELL INFORMASJON

### Beskrivelse

Hep-70.4 hepatomcellelinjen er avledet fra en leversvulst fra mus, nærmere bestemt fra musestammen C57BL/6J. Denne cellelinjen er kjent for sine mutasjoner i p53-genet, som ble identifisert ved forskjellige passeringer under in vitro-oppformering. Ved passasje nummer 8 ble det oppdaget et svakt tilleggssignal i SSCP-analysen (single-strand conformation polymorphism), noe som indikerte tilstedeværelsen av en p53-mutasjon. Ved passasje nummer 38 ble det identifisert to forskjellige punktmutasjoner i p53: en G:C til C:G-transversjon ved kodon 135 og en C:G til G:C-transversjon ved kodon 138 i ekson 5. Disse mutasjonene førte til aminosyreendringer fra henholdsvis alanin til prolin og cystein til tryptofan.
Hep-70.4-cellelinjen viser en morfologisk fenotype som varierer betydelig i løpet av formeringen. Noen sublinjer har en epitelmorfologi, mens andre har et fibroblastlignende utseende. Denne heterogeniteten gjenspeiler cellelinjens komplekse natur og dens tilpasningsevne under ulike dyrkingsforhold. Tilstedeværelsen av både normale og muterte p53-alleler i de tidlige passasjene tyder på at mutasjonene gir en selektiv vekstfordel, noe som fører til en overvekt av muterte kloner over tid.
Analyse av intermediære filamentproteiner i Hep-70.4-cellelinjen avslørte uttrykk av de enkle keratinene K8 og K18, som er typiske for normale leverceller, samt vimentin og keratin K19 i varierende grad. Disse proteinmønstrene bekrefter cellelinjens hepatocytiske opprinnelse og klassifiseringen som en hepatomlinje. Den genomiske stabiliteten til Hep-70.4 ble videre vurdert ved hjelp av DNA-fingeravtrykksanalyse, som ikke avslørte noen større strukturelle abnormiteter, selv om det ble observert endringer i den relative intensiteten til enkelte bånd med økende passasjeantall.

| | |
|---|---|
| **Vev** | Lever |
| **Sykdom** | Hepatocellulært karsinom |

### Synonymer

- HEP-70.4
- 70.4

## KLASSIFISERING

| | |
|---|---|
| **Organisme** | Mus |
| **Sex** | Kvinne |
| **Vekstegenskaper** | Tilhenger |
| **Biosikkerhetsnivå** | 1 |

## EGENSKAPER

| | |
|---|---|
| **Morfologi** | Epitel-lignende |
| **Tumorinduserende** | Ja, hos C3H/He-mus |

## IDENTIFIKATORER

### Kildehenvisning

Hep-70.4 (Cytion katalognummer 400207)

| | |
|---|---|
| **NCBI-skattenummer** | 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

## UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

**Mutasjonsprofil**

P53

## HÅNDTERING OG KULTUR

**Næringsmedium**

DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

| | |
|---|---|
| **Inkubasjonsatmosfære** | 37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære. |

**Kosttilskudd**

Suppler mediet med 10 % FBS

| | |
|---|---|
| **Dissosiasjonsmiddel** | Accutase |

**Subkultivering**

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

| | |
|---|---|
| **Såtetthet** | 1 x $10^4$ celler/$cm^2$ |
| **Væskefornyelse** | Hver 3. til 5. dag |
| **Gjenoppretting etter tining** | La cellene restituere seg i minst 24 til 48 timer. |

**Tining og dyrking**

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.

## KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

**Sterilitet**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

| | |
|---|---|
| **Frysemedium** | Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress. |

**Oppbevaringsbetingelser**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

### Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## DONOR

| | |
|---|---|
| **Rase / underart** | C57BL/6J |
| **Donorens alder** | Voksen |

## JURIDISK OG SIKKERHET

### Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

### Ansvarsfraskrivelse

Cellene våre leveres utelukkende til in vitro-laboratorieforskningsformål og er ikke ment for klinisk eller diagnostisk bruk, og de skal heller ikke administreres til mennesker eller brukes til veterinærformål. Brukere må overholde alle gjeldende retningslinjer og forskrifter for håndtering og bruk av disse cellene i forskningssammenheng.

### Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

| | |
|---|---|
| **Avtale om materialoverføring kreves** | Yes |

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