Hep-70.4

400207

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórek wątrobiaka Hep-70.4 pochodzi z guza wątroby myszy, w szczególności ze szczepu myszy C57BL/6J. Ta linia komórkowa wyróżnia się mutacjami w genie p53, które zostały zidentyfikowane w różnych pasażach podczas rozmnażania in vitro. Przy przejściu numer 8 wykryto słaby dodatkowy sygnał w analizie polimorfizmu konformacji pojedynczej nici (SSCP), wskazujący na obecność mutacji p53. Do pasażowania numer 38 zidentyfikowano dwie różne mutacje punktowe p53: konwersję G:C do C:G w kodonie 135 i konwersję C:G do G:C w kodonie 138 eksonu 5. Mutacje te doprowadziły do zmiany aminokwasów odpowiednio z alaniny na prolinę i cysteiny na tryptofan.
Linia komórkowa Hep-70.4 wykazuje fenotyp morfologiczny, który zmienia się znacząco podczas jej namnażania. Niektóre podlinie wykazują morfologię nabłonkową, podczas gdy inne wykazują wygląd podobny do fibroblastów. Ta heterogeniczność odzwierciedla złożoną naturę linii komórkowej i jej zdolność adaptacji w różnych warunkach hodowli. Obecność zarówno normalnych, jak i zmutowanych alleli p53 we wczesnych pasażach sugeruje, że mutacje zapewniają selektywną przewagę wzrostu, prowadząc z czasem do przewagi zmutowanych klonów.
Analiza białek włókien pośrednich linii komórkowej Hep-70.4 ujawniła ekspresję prostych keratyn K8 i K18, które są typowe dla prawidłowych komórek wątroby, a także wimentyny i keratyny K19 w różnym stopniu. Te wzorce białkowe potwierdzają hepatocytarne pochodzenie linii komórkowej i jej klasyfikację jako linii hepatoma. Stabilność genomowa Hep-70.4 była dalej oceniana poprzez analizę odcisków palców DNA, która nie ujawniła żadnych poważnych nieprawidłowości strukturalnych, chociaż zaobserwowano zmiany we względnej intensywności niektórych pasm wraz ze wzrostem liczby pasaży.

Chusteczka	Wątroba
Choroba	Rak wątrobowokomórkowy

Synonimy

- HEP-70.4
- 70.4

KLASYFIKACJA

Organizm	Mysz
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Podobny do nabłonka
Nowotworotwórczy	Tak, u myszy C3H/He

IDENTYFIKATORY

Źródło

Hep-70.4 (numer katalogowy Cytion 400207)

Numer identyfikacji podatkowej 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

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

P53

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Gęstość wysiewu	1 x 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	Co 3 do 5 dni
Powrót do stanu sprzed rozmrożenia	Pozostawić komórki do regeneracji przez co najmniej 24 do 48 godzin.

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Rasa / podgatunek	C57BL/6J
Wiek dawcy	Dorosły

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Zastrzeżenie

Nasze komórki są dostarczane wyłącznie do celów badań laboratoryjnych in vitro i nie są przeznaczone do użytku klinicznego lub diagnostycznego, nie mogą być podawane ludziom ani wykorzystywane do celów weterynaryjnych. Użytkownicy muszą przestrzegać wszystkich obowiązujących wytycznych i przepisów dotyczących obchodzenia się z tymi komórkami i korzystania z nich w środowisku badawczym.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes