Hep-70.4

400207

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

Hepatomcellinjen Hep-70.4 härrör från en levertumör från en mus, närmare bestämt från musstammen C57BL/6J. Denna cellinje är anmärkningsvärd för sina mutationer i p53-genen, vilka identifierades vid olika passager under in vitro-förökning. Vid passage nummer 8 upptäcktes en svag tilläggssignal i SSCP-analysen (single-strand conformation polymorphism), vilket indikerade förekomsten av en p53-mutation. Vid passage nummer 38 identifierades två distinkta punktmutationer i p53: en G:C till C:G-transversion vid kodon 135 och en C:G till G:C-transversion vid kodon 138 i exon 5. Dessa mutationer ledde till aminosyraförändringar från alanin till prolin respektive cystein till tryptofan.
Cellinjen Hep-70.4 uppvisar en morfologisk fenotyp som varierar avsevärt under dess spridning. Vissa sublinjer uppvisar en epitelial morfologi, medan andra uppvisar ett fibroblastliknande utseende. Denna heterogenitet återspeglar cellinjens komplexa natur och dess anpassningsförmåga under olika odlingsförhållanden. Förekomsten av både normala och muterade p53-alleler i de tidiga passagerna tyder på att mutationerna ger en selektiv tillväxtfördel, vilket leder till en övervikt av muterade kloner med tiden.
Proteinanalys av intermediära filament i cellinjen Hep-70.4 visade uttryck av enkla keratiner K8 och K18, som är typiska för normala leverceller, samt vimentin och keratin K19 i varierande grad. Dessa proteinmönster bekräftar cellinjens hepatocytiska ursprung och dess klassificering som en hepatomlinje. Den genomiska stabiliteten hos Hep-70.4 utvärderades ytterligare genom DNA-fingeravtrycksanalys, som inte avslöjade några större strukturella avvikelser, även om förändringar i den relativa intensiteten hos vissa band observerades med ökande passageantal.

Vävnad	Lever
Sjukdom	Hepatocellulärt karcinom

Synonymer

- HEP-70.4
- 70.4

KLASSIFICERING

Organism	Mus
Kön	Kvinna
Tillväxtegenskaper	Följsam
Biosäkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Epitelliknande
Tumörframkallande	Ja, i C3H/He-möss

IDENTIFIERARE

Källa

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

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Mutationsprofil

P53

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Såtäthet	1 x 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	Var 3:e till 5:e dag
Återhämtning efter upptining	Låt cellerna återhämta sig i minst 24 till 48 timmar.

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Ras / underart	C57BL/6J
Donatorns ålder	Vuxen

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Ansvarsfriskrivning

Våra celler tillhandahålls uteslutande för in vitro-laboratorieforskning och är inte avsedda för klinisk eller diagnostisk användning, och de ska inte heller administreras till människor eller användas för veterinära ändamål. Användare måste följa alla tillämpliga riktlinjer och föreskrifter för hantering och användning av dessa celler i en forskningsmiljö.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal om materialöverföring krävs	Yes