Hep-70.4

400207

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

Клітинна лінія гепатоми Hep-70.4 отримана з пухлини печінки миші, а саме зі штаму миші C57BL/6J. Ця клітинна лінія відрізняється наявністю мутацій в гені p53, які були ідентифіковані на різних пасажах під час розмноження in vitro. На пасажі № 8 в аналізі одноланцюгового конформаційного поліморфізму (SSCP) було виявлено слабкий додатковий сигнал, що вказує на наявність мутації p53. У пасажі № 38 було ідентифіковано дві окремі точкові мутації p53: трансверсію G:C на C:G у кодоні 135 та трансверсію C:G на G:C у кодоні 138 екзону 5. Ці мутації призвели до заміни амінокислот з аланіну на пролін та цистеїну на триптофан відповідно. Клітинна лінія Hep-70.4 має морфологічний фенотип, який значно змінюється в процесі розмноження. Деякі сублінії демонструють епітеліальну морфологію, тоді як інші - фібробластоподібну. Ця гетерогенність відображає складну природу клітинної лінії та її пристосованість до різних умов культивування. Присутність як нормальних, так і мутованих алелів p53 в ранніх пасажах свідчить про те, що мутації надають перевагу селективному росту, що призводить до переважання мутованих клонів з часом.
Аналіз білків проміжних філаментів клітинної лінії Hep-70.4 виявив експресію простих кератинів K8 і K18, які є типовими для нормальних клітин печінки, а також віментину і кератину K19 в різному ступені. Ці білкові патерни підтверджують гепатоцитарне походження клітинної лінії та її класифікацію як лінії гепатоми. Геномна стабільність Hep-70.4 була додатково оцінена за допомогою аналізу ДНК-відбитків, який не виявив жодних серйозних структурних аномалій, хоча зі збільшенням кількості пасажів спостерігалися зміни відносної інтенсивності певних смуг.

Тканина	Печінка
Хвороба	Гепатоцелюлярна карцинома

Синоніми

- HEP-70.4
- 70.4

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Миша
Секс	Жінка
Характеристики росту	Прихильник
Рівень біобезпеки	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Епітеліальноподібні
Пухлиноутворювальний	Так, у мишей C3H/He

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

Hep-70.4 (номер за каталогом Cytion 400207)

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	10090
Целозавр	CVCL_5772

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Профіль мутацій

P53

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS

Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Щільність висіву	1 x 10^4 клітин/см2
Оновлення рідини	Кожні 3-5 днів
Відновлення після відлиги	Дайте клітинам відновитися принаймні 24-48 годин.

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Порода / підвид	C57BL/6J
Вік донора	Дорослий

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Застереження

Наші клітини призначені виключно для лабораторних досліджень in vitro і не призначені для клінічного або діагностичного використання, а також не можуть бути введені людям або використані у ветеринарних цілях. Користувачі повинні дотримуватися всіх застосовних інструкцій і правил щодо поводження з цими клітинами та їх використання в дослідницьких цілях.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Необхідна угода про передачу матеріалів	Yes