

Buňky Hep-66.3A | 400206

Obecné informace

Description

Hepatomová buněčná linie Hep-66.4A je odvozena z myšího jaterního nádoru, konkrétně z myšího kmene C57BL/6J. Tato buněčná linie se vyznačuje hepatocytárním původem, který byl potvrzen analýzou proteinů intermediárních vláken. Hep-66.4A exprimuje jednoduché keratiny K8 a K18, které jsou typické pro normální jaterní buňky, a v různé míře také vimentin a keratin K19. Tyto proteinové vzorce potvrzují hepatocytární povahu buněčné linie a její zařazení mezi hepatomové linie.

Buněčná linie Hep-66.4A vykazuje převážně epiteliální morfologii, což odráží její původ z hepatocytů. Tento morfologický fenotyp je v souladu s jejím profilem exprese proteinů. Analýza otisků DNA linie Hep-66.4A neodhalila žádné významné strukturální abnormality, což svědčí o určité genomické stabilitě. Byly však pozorovány určité změny v relativní intenzitě specifických pásů s rostoucím počtem pasáží, což naznačuje menší genomickou variabilitu během delšího kultivačního období.

Navzdory absenci detekovatelných mutací p53 v primárních myších jaterních nádorech byly v některých hepatomových liniích během množení in vitro zjištěny aberace. Buněčná linie Hep-66.4A byla analyzována na mutace v genech p53 a c-Ha-ras. Absence detekovatelných mutací v genu p53 u této linie během raných pasáží naznačuje stabilní genetické pozadí. Tato buněčná linie slouží jako cenný model pro studium hepatocelulárního karcinomu a poskytuje vhled do buněčných a molekulárních mechanismů, které jsou základem tumorigeneze jater.

Organism	Myš
Tissue	Játra
Disease	Hepatocelulární karcinom
Synonyms	HEP-66.3A, 66.3A

Charakteristika

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Dospělí
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Buňky Hep-66.3A | 400206**Citation** Hep-66.3A (katalogové číslo Cytion 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Biomolekulární data****Protein expression** Keratin 8, keratin 18, vimentin**Tumorigenic** Ano, u myší B6C3F1**Mutational profile** P53 wt**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčiku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8**Fluid renewal** Každých 3 až 5 dní**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky Hep-66.3A | 400206

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky Hep-66.3A | 400206

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

M_18-3: 16,18
M_4-2: 20,3,21.3
M_6-7: 12,17
M_3-2: 14
M_19-2: 12,13
M_7-1: 26,26.2
M_1-1: 10,16
M_8-1: 16
M_2-1: 9,15
M_15-3: 22,3,25.3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 16,20
M_17-2: 15
M_12-1: 16,17
M_5-5: 15,16
M_X-1: 28
M_13-1: 17
Human D4/D8: -