

## Hep-66.3A-celler | 400206

## Generel information

## Description

Hep-66.4A hepatomcellelinjen stammer fra en muselevertumor, specifikt fra C57BL/6J-musestammen. Denne cellelinje er kendetegnet ved sin hepatocytiske oprindelse, som er bekræftet gennem analyse af intermediaære filamentproteiner. Hep-66.4A udtrykker simple keratiner K8 og K18, som er typiske for normale leverceller, samt vimentin og keratin K19 i varierende grad. Disse proteinmønstre bekræfter cellelinjens hepatocytiske natur og dens klassificering som en hepatomlinje.

Hep-66.4A-cellelinjen udviser en overvejende epitelial morfologi, hvilket afspejler dens oprindelse fra hepatocytter. Denne morfologiske fænotype stemmer overens med dens proteinekspressionsprofil. DNA-fingeraftryksanalyse af Hep-66.4A afslørede ingen større strukturelle abnormiteter, hvilket indikerer en grad af genomisk stabilitet. Der blev dog observeret nogle ændringer i de relative intensiteter af specifikke bånd med stigende antal passager, hvilket tyder på mindre genomisk variation over længere kulturperioder.

På trods af fraværet af påviselige p53-mutationer i de primære muselevertumorer blev der fundet afvigelser i nogle hepatomlinjer under in vitro-opformering. Hep-66.4A-cellelinjen blev analyseret for mutationer i p53- og c-Ha-ras-generne. Fraværet af påviselige mutationer i p53-genet i denne linje under tidlige passager tyder på en stabil genetisk baggrund. Denne cellelinje fungerer som en værdifuld model til undersøgelse af hepatocellulært karcinom og giver indsigt i de cellulære og molekylære mekanismer, der ligger til grund for leverens tumorigenese.

**Organism** Mus

**Tissue** Lever

**Disease** Hepatocellulært karcinom

**Synonyms** HEP-66.3A, 66.3A

## Karakteristika

**Breed/Subspecies** C57BL/6J

**Age** Voksen

**Gender** Kvinde

**Morphology** Epitel-lignende

**Growth properties** Vedhæftende

## Regulatoriske data

## Hep-66.3A-celler | 400206

**Citation** Hep-66.3A (Cytion katalognummer 400206)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_5771

## Biomolekylære data

**Protein expression** Keratin 8, Keratin 18, Vimentin

**Tumorigenic** Yees, i B6C3F1-mus

**Mutational profile** P53 wt

## Håndtering

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag

**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

## Hep-66.3A-celler | 400206

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## Hep-66.3A-celler | 400206

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.