

## Hep-66.3A-Zellen | 400206

### Allgemeine Informationen

#### Description

Die Hep-66.4A Hepatom-Zelllinie stammt von einem Lebertumor der Maus, insbesondere vom C57BL/6J-Mausstamm. Diese Zelllinie zeichnet sich durch ihren hepatozytären Ursprung aus, der durch die Analyse von Intermediärfilamentproteinen bestätigt wurde. Hep-66.4A exprimiert die einfachen Keratine K8 und K18, die für normale Leberzellen typisch sind, sowie Vimentin und Keratin K19 in unterschiedlichem Ausmaß. Diese Proteinmuster bestätigen die hepatozytäre Natur der Zelllinie und ihre Klassifizierung als Hepatom-Linie.

Die Zelllinie Hep-66.4A weist eine überwiegend epitheliale Morphologie auf, was auf ihre Herkunft aus Hepatozyten hinweist. Dieser morphologische Phänotyp stimmt mit ihrem Proteinexpressionsprofil überein. Die DNA-Fingerprint-Analyse von Hep-66.4A ergab keine größeren strukturellen Anomalien, was auf ein gewisses Maß an genomischer Stabilität hindeutet. Allerdings wurden mit zunehmender Passagezahl einige Veränderungen in den relativen Intensitäten spezifischer Banden beobachtet, was auf eine geringfügige genomische Variabilität über längere Kulturzeiträume hindeutet.

Obwohl in den primären Lebertumoren der Maus keine p53-Mutationen nachweisbar waren, wurden in einigen Hepatomlinien während der In-vitro-Vermehrung Aberrationen gefunden. Die Zelllinie Hep-66.4A wurde auf Mutationen in den Genen p53 und c-Ha-ras untersucht. Das Fehlen nachweisbarer Mutationen im p53-Gen in dieser Linie während der frühen Passagen deutet auf einen stabilen genetischen Hintergrund hin. Diese Zelllinie dient als wertvolles Modell für die Untersuchung des Leberzellkarzinoms und bietet Einblicke in die zellulären und molekularen Mechanismen, die der Tumorentstehung in der Leber zugrunde liegen.

#### Organism

Maus

#### Tissue

Leber

#### Disease

Hepatozelluläres Karzinom

#### Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

### Merkmale

#### Breed/Subspecies

C57BL/6J

#### Age

Erwachsener

#### Gender

Weiblich

#### Morphology

Epithelähnlich

#### Growth properties

Adhärent

## Hep-66.3A-Zellen | 400206

## Regulatorische Daten

<b>Citation</b>	Hep-66.3A (Cytion-Katalognummer 400206)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5771

## Biomolekulare Daten

<b>Protein expression</b>	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin
<b>Tumorigenic</b>	Ja, bei B6C3F1-Mäusen
<b>Mutational profile</b>	P53 wt

## Handhabung

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
<b>Supplements</b>	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
<b>Split ratio</b>	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:8
<b>Fluid renewal</b>	Alle 3 bis 5 Tage

## Hep-66.3A-Zellen | 400206

### Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

## Hep-66.3A-Zellen | 400206

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

### STR-Profil

**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:** -