

Κύτταρα Hep-66.3A | 400206

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά ηπατώματος Hep-66.4A προέρχεται από όγκο του ήπατος ποντικού, συγκεκριμένα από το στέλεχος ποντικού C57BL/6J. Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από ηπατοκυτταρική προέλευση, η οποία επιβεβαιώνεται μέσω της ανάλυσης πρωτεϊνών ενδιάμεσων νηματίων. Η Hep-66.4A εκφράζει τις απλές κερατίνες K8 και K18, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές των φυσιολογικών ηπατικών κυττάρων, καθώς και τη βιμεντίνη και την κερατίνη K19 σε διαφορετικό βαθμό. Αυτά τα πρωτεϊνικά μοτίβα επιβεβαιώνουν την ηπατοκυτταρική φύση της κυτταρικής σειράς και την ταξινόμησή της ως ηπατώματος.

Η κυτταρική σειρά Hep-66.4A εμφανίζει κυρίως επιθηλιακή μορφολογία, γεγονός που αντανακλά την προέλευσή της από ηπατοκύτταρα. Αυτός ο μορφολογικός φαινότυπος συνάδει με το προφίλ έκφρασης των πρωτεϊνών της. Η ανάλυση δακτυλικού αποτυπώματος DNA της Hep-66.4A δεν αποκάλυψε σημαντικές δομικές ανωμαλίες, υποδεικνύοντας έναν βαθμό γονιδιωματικής σταθερότητας. Ωστόσο, παρατηρήθηκαν ορισμένες αλλαγές στις σχετικές εντάσεις συγκεκριμένων ζωνών με την αύξηση των αριθμών διέλευσης, γεγονός που υποδηλώνει μικρή γονιδιωματική μεταβλητότητα κατά τη διάρκεια παρατεταμένων περιόδων καλλιέργειας.

Παρά την απουσία ανιχνεύσιμων μεταλλάξεων p53 στους πρωτογενείς όγκους του ήπατος ποντικών, διαπιστώθηκαν εκτροπές σε ορισμένες σειρές ηπατωμάτων κατά τον *in vitro* πολλαπλασιασμό. Η κυτταρική σειρά Hep-66.4A αναλύθηκε για μεταλλάξεις στα γονίδια p53 και c-Ha-ras. Η απουσία ανιχνεύσιμων μεταλλάξεων στο γονίδιο p53 σε αυτή τη γραμμή κατά τη διάρκεια των πρώτων διαβάσεων υποδηλώνει ένα σταθερό γενετικό υπόβαθρο. Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμεύει ως πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, παρέχοντας πληροφορίες για τους κυτταρικούς και μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν την καρκινογένεση του ήπατος.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Ήπαρ

Disease

Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Ενηλίκων

Gender

Γυναίκα

Morphology

Επιθηλιοειδής

Growth properties

Προσκολλημένο

Κύτταρα Hep-66.3A | 400206

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Hep-66.3A (αριθμός καταλόγου Cytion 400206)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5771

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	Κερατίνη 8, Κερατίνη 18, Βιμεντίνη
Tumorigenic	Ναι, σε ποντίκια B6C3F1
Mutational profile	P53 wt

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	Κάθε 3 έως 5 ημέρες

Κύτταρα Hep-66.3A | 400206**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα Hep-66.3A | 400206

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.