

Hep-66.3A rakud | 400206

Üldine teave

Description

Hep-66.4A hepatoomi rakuliin on saadud hiire maksakasvajast, täpsemalt hiiretüvest C57BL/6J. Seda rakuliini iseloomustab selle hepatotsütaarne päritolu, mis on kinnitatud vahepealsete filamentide valkude analüüsiga. Hep-66.4A ekspresseerib lihtsaid keratiini K8 ja K18, mis on tüüpilised normaalsetele maksarakkudele, samuti erineval määral vimentiini ja keratiini K19. Need valgumustrid kinnitavad rakuliini hepatotsütaarset iseloomu ja selle liigitamist hepatoomiliiniks.

Hep-66.4A rakuliinil on valdavalt epiteliaalne morfoloogia, mis peegeldab selle päritolu hepatotsüütidest. See morfoloogiline fenotüüp on kooskõlas selle valkude ekspressiooniprofiiliga. Hep-66.4A DNA-sõrmejälje analüüs ei tuvastanud mingeid olulisi struktuurilisi kõrvalekaldeid, mis viitab teatavale genoomilisele stabiilsusele. Siiski täheldati mõningaid muutusi konkreetsete ribade suhtelises intensiivsuses, kui passaažide arv suurenes, mis viitab vähesele genoomilisele varieeruvusele pikemate kultuuriperioodide jooksul.

Vaatamata tuvastatavate p53-mutatsioonide puudumisele hiire esmastes maksakasvajates, leiti in vitro paljunemise käigus mõnes hepatoomiliinis aberratsioone. Hep-66.4A rakuliini analüüsiti p53 ja c-Ha-ras geenide mutatsioonide suhtes. P53-geeni tuvastatavate mutatsioonide puudumine selles liinis varajaste passatsioonide ajal viitab stabiilse geneetilise tausta olemasolule. See rakuliin on väärtuslik mudel hepatotsellulaarse kartsinoomi uurimiseks, andes ülevaate maksa kasvaja tekke aluseks olevatest rakulistest ja molekulaarsetest mehhanismidest.

Organism	Hiir
Tissue	Maksa
Disease	Hepatotsellulaarne kartsinoom
Synonyms	HEP-66.3A, 66.3A

Omadused

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Täiskasvanud
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Hep-66.3A rakud | 400206**Citation** Hep-66.3A (Cytioni katalooginumber 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** Keratiin 8, keratiin 18, vimentiin**Tumorigenic** Jah, B6C3F1 hiirtel**Mutational profile** P53 wt**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** Iga 3 kuni 5 päeva tagant**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Hep-66.3A rakud | 400206**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Hep-66.3A rakud | 400206

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.