

Hep-66.3A-solut | 400206

Yleisiä tietoja

Description

Hep-66.4A-hepatoomasolulinja on peräisin hiiren maksakasvaimesta, erityisesti C57BL/6J-hiirikannasta. Tälle solulinjalle on ominaista sen hepatosyyttinen alkuperä, joka on vahvistettu intermediaaristen filamenttiproteiinien analyysillä. Hep-66.4A ilmentää yksinkertaisia keratiineja K8 ja K18, jotka ovat tyypillisiä normaaleille maksasoluille, sekä vaihtelevassa määrin vimentiiniä ja keratiinia K19. Nämä proteiinimallit vahvistavat solulinjan hepatosyyttisen luonteen ja sen luokittelun hepatoomalinjaksi.

Hep-66.4A-solulinjalla on pääasiassa epiteelimorfologia, joka kuvastaa sen alkuperää hepatosyyteistä. Tämä morfologinen fenotyyppi on yhdenmukainen sen proteiiniexpressioprofiilin kanssa. Hep-66.4A:n DNA-sormenjälkianalyysi ei paljastanut merkittäviä rakenteellisia poikkeavuuksia, mikä viittaa jonkinasteiseen genomiseen vakauteen. Tiettyjen kaistojen suhteellisissa intensiteeteissä havaittiin kuitenkin joitakin muutoksia lisääntyvien läpivientien myötä, mikä viittaa vähäiseen genomiseen vaihteluun pitkien viljelyjaksojen aikana.

Vaikka hiiren maksan primaarikasvaimissa ei ollut havaittavissa p53-mutaatioita, joissakin hepatoomalinjoissa havaittiin poikkeavuuksia in vitro -lisäyksen aikana. Hep-66.4A-solulinjasta analysoitiin p53- ja c-Ha-ras-geenien mutaatiot. Koska p53-geenin mutaatioita ei havaittu tässä linjassa varhaisessa vaiheessa, se viittaa vakaaseen geneettiseen taustaan. Tämä solulinja toimii arvokkaana mallina hepatosellulaarisen karsinooman tutkimiseen, ja se tarjoaa tietoa maksan kasvainten synnyn taustalla olevista solu- ja molekyylimekanismeista.

Organism	Hiiri
Tissue	Maksa
Disease	Hepatosellulaarinen karsinooma
Synonyms	HEP-66.3A, 66.3A

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Aikuiset
Gender	Nainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Hep-66.3A-solut | 400206

Citation	Hep-66.3A (Cytionin luettelonumero 400206)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5771

Biomolekyytitiedot

Protein expression	Keratiini 8, Keratiini 18, Vimentiini
Tumorigenic	Kyllä, B6C3F1-hiirissä
Mutational profile	P53 wt

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	3-5 päivän välein
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Hep-66.3A-solut | 400206

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Hep-66.3A-solut | 400206

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.