

## Cellules Hep-66.3A | 400206

## Informations générales

## Description

La lignée cellulaire d'hépatome Hep-66.4A est dérivée d'une tumeur hépatique de souris, plus précisément de la souche de souris C57BL/6J. Cette lignée cellulaire se caractérise par son origine hépatocytaire, confirmée par l'analyse des protéines de filaments intermédiaires. Hep-66.4A exprime les kératines simples K8 et K18, typiques des cellules hépatiques normales, ainsi que la vimentine et la kératine K19 à des degrés divers. Ces profils protéiques confirment la nature hépatocytaire de la lignée cellulaire et sa classification en tant que lignée d'hépatome.

La lignée cellulaire Hep-66.4A présente une morphologie essentiellement épithéliale, reflétant son origine hépatocytaire. Ce phénotype morphologique est cohérent avec son profil d'expression protéique. L'analyse de l'empreinte ADN de Hep-66.4A n'a révélé aucune anomalie structurelle majeure, ce qui indique un certain degré de stabilité génomique. Cependant, certains changements dans les intensités relatives de bandes spécifiques ont été observés avec l'augmentation du nombre de passages, suggérant une variabilité génomique mineure sur des périodes de culture prolongées.

Malgré l'absence de mutations p53 détectables dans les tumeurs hépatiques primaires de souris, des aberrations ont été trouvées dans certaines lignées d'hépatome au cours de la propagation in vitro. La lignée cellulaire Hep-66.4A a été analysée pour les mutations des gènes p53 et c-Ha-ras. L'absence de mutations détectables dans le gène p53 dans cette lignée au cours des premiers passages suggère un fond génétique stable. Cette lignée cellulaire constitue un modèle précieux pour l'étude du carcinome hépatocellulaire et permet de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent la tumorigenèse hépatique.

## Organism

Souris

## Tissue

Foie

## Disease

Carcinome hépatocellulaire

## Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

## Caractéristiques

## Breed/Subspecies

C57BL/6J

## Age

Adulte

## Gender

Femme

## Morphology

De type épithélial

## Growth properties

Adhérent

## Cellules Hep-66.3A | 400206

## Données réglementaires

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

## Données biomoléculaires

<b>Protein expression</b>	Kératine 8, Kératine 18, Vimentine
<b>Tumorigenic</b>	Oui, chez les souris B6C3F1
<b>Mutational profile</b>	P53 wt

## Manipulation

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Compléter le milieu avec 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
<b>Split ratio</b>	Un rapport de 1:4 à 1:8 est recommandé
<b>Fluid renewal</b>	Tous les 3 à 5 jours

### Cellules Hep-66.3A | 400206

#### Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

#### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

#### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

#### Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

## Cellules Hep-66.3A | 400206

### Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

### Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

### Profil STR

**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:** -