

Hep-66.3A sejtek | 400206

Általános információk

Description

A Hep-66.4A hepatóma sejtvonala egér májtumorból származik, kifejezetten a C57BL/6J egértörzsből. Ezt a sejtvonala a hepatocita eredet jellemzi, amit az intermedier filamentum fehérje analízisével igazoltak. A Hep-66.4A expresszálja a normális májsejtekre jellemző K8 és K18 egyszerű keratinokat, valamint különböző mértékben a vimentint és a K19 keratint. Ezek a fehérjemintázatok megerősítik a sejtvonala hepatocita jellegét és hepatóma vonalnak való besorolását.

A Hep-66.4A sejtvonala túlnyomórészt epiteliális morfológiát mutat, ami a hepatocitákból való származását tükrözi. Ez a morfológiai fenotípus összhangban van a fehérjeexpressziós profiljával. A Hep-66.4A DNS-ujjlenyomat-elemzése nem mutatott ki jelentős szerkezeti rendellenességeket, ami bizonyos fokú genomiális stabilitásra utal. Ugyanakkor bizonyos sávok relatív intenzitásának változásait figyeltük meg a növekvő passzázsszámmal, ami kisebb genomiális variabilitásra utal a hosszabb tenyésztési időszakok alatt.

Annak ellenére, hogy a primer egér májtumorsejtekben nem voltak kimutatható p53 mutációk, néhány hepatóma vonalban in vitro szaporítás során aberrációkat találtak. A Hep-66.4A sejtvonala elemezték a p53 és a c-Ha-ras gének mutációi szempontjából. A p53 gén kimutatható mutációinak hiánya ebben a vonalban a korai passzázssok során stabil genetikai háttérre utal. Ez a sejtvonala értékes modellként szolgál a hepatocelluláris karcinóma tanulmányozásához, betekintést nyújtva a máj tumorigenezisének háttérében álló sejtes és molekuláris mechanizmusokba.

Organism

Egér

Tissue

Máj

Disease

Hepatocelluláris karcinóma

Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

Jellemzők

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Felnőtt

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Hep-66.3A sejtek | 400206

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

Biomolekuláris adatok

Protein expression	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin
Tumorigenic	Igen, B6C3F1 egerekben
Mutational profile	P53 wt

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	3-5 naponta
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Hep-66.3A sejtek | 400206

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Hep-66.3A sejtek | 400206

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.