

Hep-66.3A ląstelės | 400206

Bendra informacija

Description

Hep-66.4A hepatomos ląstelių linija yra gauta iš pelių kepenų naviko, konkrečiai iš C57BL/6J pelių padermės. Šiai ląstelių linijai būdinga hepatocitinė kilmė, patvirtinta atlikus tarpinių gijų baltymų analizę. Hep-66.4A ekspresuoja paprastus keratinus K8 ir K18, kurie būdingi normalioms kepenų ląstelėms, taip pat įvairiu laipsniu vimentiną ir keratiną K19. Šie baltymų modeliai patvirtina hepatocitinį ląstelių linijos pobūdį ir jos priskyrimą hepatomos linijai.

Hep-66.4A ląstelių linijoje vyrauja epitelinė morfologija, rodanti jos kilmę iš hepatocitų. Šis morfologinis fenotipas atitinka jos baltymų raiškos profilį. Atlikus Hep-66.4A DNR pirštų atspaudų analizę nenustatyta jokių didesnių struktūrinių pakitimų, o tai rodo tam tikrą genomo stabilumą. Tačiau, didėjant perėjimo skaičiui, pastebėti tam tikri tam tikrų juostų santykinio intensyvumo pokyčiai, o tai rodo nedidelį genomo kintamumą per ilgesnį auginimo laikotarpį.

Nepaisant to, kad pirminiuose pelių kepenų augliuose p53 mutacijų nebuvo aptikta, kai kuriose hepatomų linijose dauginimo in vitro metu buvo aptikta aberacijų. Hep-66.4A ląstelių linija buvo tiriama dėl p53 ir c-Ha-ras genų mutacijų. Tai, kad šioje linijoje ankstyvųjų pakopų metu p53 geno mutacijų neaptikta, rodo, kad genetinis fonas yra stabilus. Ši ląstelių linija yra vertingas modelis hepatocelulinei karcinomai tirti, leidžiantis suprasti ląstelių ir molekulinis mechanizmus, kurie lemia kepenų navikus.

Organism	Pelė
Tissue	Kepenys
Disease	Hepatocelulinė karcinoma
Synonyms	HEP-66.3A, 66.3A

Charakteristikos

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Suaugusiųjų
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Hep-66.3A ląstelės | 400206

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

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Keratinas 8, keratinas 18, vimentinas
Tumorigenic	Taip, B6C3F1 pelėms
Mutational profile	P53 wt

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	Kas 3-5 dienas
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Hep-66.3A ląstelės | 400206

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Hep-66.3A ląstelės | 400206

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.