

Hep-66.3A-cellen | 400206

Algemene informatie

Description

De hepatoomcellijn Hep-66.4A is afgeleid van een levertumor bij muizen, specifiek van de C57BL/6J muizenstam. Deze cellijn wordt gekarakteriseerd door zijn hepatocytische oorsprong, bevestigd door middel van intermediaire filamenteiwitanalyse. Hep-66.4A brengt eenvoudige keratines K8 en K18 tot expressie, die typerend zijn voor normale levercellen, evenals vimentine en keratine K19 in verschillende mate. Deze eiwitpatronen bevestigen de hepatocytische aard van de cellijn en de classificatie als hepatoomlijn.

De Hep-66.4A cellijn vertoont een overwegend epitheliale morfologie, wat zijn oorsprong uit hepatocyten weerspiegelt. Dit morfologische fenotype komt overeen met het eiwitexpressieprofiel. DNA-fingerprintanalyse van Hep-66.4A onthulde geen belangrijke structurele afwijkingen, wat duidt op een zekere mate van genomische stabiliteit. Er werden echter enkele veranderingen in de relatieve intensiteit van specifieke banden waargenomen met toenemende passagegetallen, wat duidt op een geringe genomische variabiliteit gedurende langere kweekperiodes.

Ondanks de afwezigheid van detecteerbare p53-mutaties in de primaire muizenlevertumoren, werden in sommige hepatoomlijnen afwijkingen gevonden tijdens in vitro vermeerdering. De Hep-66.4A cellijn werd geanalyseerd op mutaties in de p53 en c-Ha-ras genen. De afwezigheid van detecteerbare mutaties in het p53-gen in deze lijn tijdens vroege passages suggereert een stabiele genetische achtergrond. Deze cellijn dient als waardevol model voor het bestuderen van hepatocellulair carcinoom en biedt inzicht in de cellulaire en moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan levertumorigenese.

Organism

Muis

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulair carcinoom

Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

Kenmerken

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Volwassen

Gender

Vrouw

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

Hep-66.3A-cellen | 400206

Regelgevende gegevens

Citation Hep-66.3A (Cytion catalogusnummer 400206)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5771

Biomoleculaire gegevens

Protein expression Keratine 8, Keratine 18, Vimentine

Tumorigenic Ja, in B6C3F1 muizen

Mutational profile P53 wt

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen

Fluid renewal Om de 3 tot 5 dagen

Hep-66.3A-cellen | 400206

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Hep-66.3A-cellen | 400206

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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: -