

## Hep-66.3A-celler | 400206

## Generell informasjon

## Description

Hep-66.4A hepatomcellelinjen er avledet fra en leversvulst fra mus, nærmere bestemt fra musestammen C57BL/6J. Denne cellelinjen kjennetegnes ved at den har hepatocytisk opprinnelse, noe som er bekreftet gjennom analyse av intermediære filamentproteiner. Hep-66.4A uttrykker enkle keratiner K8 og K18, som er typiske for normale leverceller, samt vimentin og keratin K19 i varierende grad. Disse proteinmønstrene bekrefter cellelinjens hepatocytiske natur og klassifiseringen som en hepatomlinje.

Hep-66.4A-cellelinjen viser en overveiende epitelial morfologi, noe som gjenspeiler dens opprinnelse fra hepatocytter. Denne morfologiske fenotypen stemmer overens med proteinuttryksprofilen. DNA-fingeravtryksanalyse av Hep-66.4A avslørte ingen større strukturelle abnormiteter, noe som indikerer en viss genomisk stabilitet. Det ble imidlertid observert noen endringer i den relative intensiteten av spesifikke bånd med økende passasjeantall, noe som tyder på mindre genomisk variasjon over lengre dyrkingsperioder.

Til tross for fraværet av påvisbare p53-mutasjoner i de primære museleversvulstene, ble det funnet avvik i noen hepatomlinjer under in vitro-oppformering. Hep-66.4A-cellelinjen ble analysert for mutasjoner i p53- og c-Ha-ras-genene. Fraværet av påvisbare mutasjoner i p53-genet i denne cellelinjen under tidlige passasjer tyder på en stabil genetisk bakgrunn. Denne cellelinjen er en verdifull modell for studier av hepatocellulært karsinom, og gir innsikt i de cellulære og molekylære mekanismene som ligger til grunn for tumorgenese i leveren.

**Organism** Mus

**Tissue** Lever

**Disease** Hepatocellulært karsinom

**Synonyms** HEP-66.3A, 66.3A

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** C57BL/6J

**Age** Voksen

**Gender** Kvinne

**Morphology** Epitel-lignende

**Growth properties** Vedhengende

## Regulatoriske data

## Hep-66.3A-celler | 400206

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

## Biomolekylære data

<b>Protein expression</b>	Keratin 8, keratin 18, vimentin
<b>Tumorigenic</b>	Ja, i B6C3F1-mus
<b>Mutational profile</b>	P53 wt

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
<b>Split ratio</b>	Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales
<b>Fluid renewal</b>	Hver 3. til 5. dag
<b>Freeze medium</b>	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## Hep-66.3A-celler | 400206

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## Hep-66.3A-celler | 400206

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**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:** -