

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**Citation** Hep-66.3A (Cytion katalognummer 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Biomolekylære data****Protein expression** Keratin 8, keratin 18, vimentin**Tumorigenic** Ja, i B6C3F1-mus**Mutational profile** P53 wt**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** 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.**Split ratio** Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Freeze medium** 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 dypfrysst 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 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

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: -