

Komórki Hep-66.3A | 400206

Informacje ogólne

Description

Linia komórek wątrobiaka Hep-66.4A pochodzi z guza wątroby myszy, w szczególności ze szczepu myszy C57BL/6J. Ta linia komórkowa charakteryzuje się pochodzeniem hepatocytarnym, potwierdzonym przez analizę białek filamentów pośrednich. Hep-66.4A wykazuje ekspresję prostych keratyn K8 i K18, które są typowe dla prawidłowych komórek wątroby, a także wimentyny i keratyny K19 w różnym stopniu. Te wzorce białkowe potwierdzają hepatocytarną naturę linii komórkowej i jej klasyfikację jako linii hepatoma.

Linia komórkowa Hep-66.4A wykazuje morfologię głównie nabłonkową, odzwierciedlającą jej pochodzenie z hepatocytów. Ten fenotyp morfologiczny jest zgodny z profilem ekspresji białek. Analiza odcisków palców DNA Hep-66.4A nie ujawniła żadnych poważnych nieprawidłowości strukturalnych, co wskazuje na pewien stopień stabilności genomu. Zaobserwowano jednak pewne zmiany we względnej intensywności określonych pasm wraz ze wzrostem liczby pasaży, co sugeruje niewielką zmienność genomu w dłuższych okresach hodowli.

Pomimo braku wykrywalnych mutacji p53 w pierwotnych guzach wątroby myszy, aberracje stwierdzono w niektórych liniach hepatoma podczas rozmnażania in vitro. Linia komórkowa Hep-66.4A została przeanalizowana pod kątem mutacji w genach p53 i c-Ha-ras. Brak wykrywalnych mutacji w genie p53 w tej linii we wczesnych pasażach sugeruje stabilne tło genetyczne. Ta linia komórkowa służy jako cenny model do badania raka wątrobowokomórkowego, zapewniając wgląd w komórkowe i molekularne mechanizmy leżące u podstaw nowotworzenia wątroby.

Organism	Mysz
Tissue	Wątroba
Disease	Rak wątrobowokomórkowy
Synonyms	HEP-66.3A, 66.3A

Charakterystyka

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Dorosły
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Komórki Hep-66.3A | 400206**Citation** Hep-66.3A (numer katalogowy Cytion 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Dane biomolekularne****Protein expression** Keratyna 8, keratyna 18, wimentyna**Tumorigenic** Tak, u myszy B6C3F1**Mutational profile** P53 wt**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki Hep-66.3A | 400206**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki Hep-66.3A | 400206

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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: -