

Celule Hep-66.3A | 400206**Informații generale****Description**

Linia celulară de hepatom Hep-66.4A este derivată dintr-o tumoare hepatică de șoarece, în special din tulpina de șoarece C57BL/6J. Această linie celulară se caracterizează prin originea sa hepatocitară, confirmată prin analiza proteinelor filamentelor intermediare. Hep-66.4A exprimă keratinele simple K8 și K18, care sunt tipice pentru celulele hepatice normale, precum și vimentina și keratina K19 în diferite grade. Aceste modele proteice confirmă natura hepatocitară a liniei celulare și clasificarea acesteia ca linie de hepatom.

Linia celulară Hep-66.4A prezintă o morfologie predominant epitelială, reflectând originea sa din hepatocite. Acest fenotip morfologic este în concordanță cu profilul său de expresie proteică. Analiza amprentei ADN a celulei Hep-66.4A nu a evidențiat anomalii structurale majore, indicând un grad de stabilitate genomică. Cu toate acestea, au fost observate unele modificări ale intensităților relative ale benzilor specifice odată cu creșterea numărului de treceri, sugerând o variabilitate genomică minoră pe perioade de cultură extinse.

În ciuda absenței mutațiilor p53 detectabile în tumorile hepatice primare ale șoarecilor, au fost găsite aberații în unele linii de hepatom în timpul propagării in vitro. Linia celulară Hep-66.4A a fost analizată pentru mutații în genele p53 și c-Ha-ras. Absența mutațiilor detectabile în gena p53 în această linie în timpul pasajelor timpurii sugerează un fond genetic stabil. Această linie celulară servește drept model valoros pentru studiul carcinomului hepatocelular, oferind perspective asupra mecanismelor celulare și moleculare care stau la baza tumorigenezei hepatice.

Organism Șoarece**Tissue** Ficat**Disease** Carcinom hepatocelular**Synonyms** HEP-66.3A, 66.3A**Caracteristici****Breed/Subspecies** C57BL/6J**Age** Adult**Gender** Femei**Morphology** De tip epitelial**Growth properties** Aderent**Date de reglementare**

Celule Hep-66.3A | 400206**Citation** Hep-66.3A (număr de catalog Cytion 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Date biomoleculare****Protein expression** Keratina 8, Keratina 18, Vimentina**Tumorigenic** Da, la șoarecii B6C3F1**Mutational profile** P53 wt**Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Fluid renewal** La fiecare 3 până la 5 zile**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule Hep-66.3A | 400206

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu colagen**.

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule Hep-66.3A | 400206

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.