

Hep-66.3A-celler | 400206

Allmän information

Description

Hepatocellinjen Hep-66.4A härrör från en levertumör från mus, specifikt från musstammen C57BL/6J. Denna cellinje kännetecknas av sitt hepatocytiska ursprung, vilket bekräftas genom analys av intermediära filamentproteiner. Hep-66.4A uttrycker enkla keratiner K8 och K18, som är typiska för normala leverceller, samt vimentin och keratin K19 i varierande grad. Dessa proteinmönster bekräftar cellinjens hepatocytiska natur och dess klassificering som en hepatocellinje.

Hep-66.4A-cellinjen uppvisar en övervägande epitelial morfologi, vilket återspeglar dess ursprung från hepatocyter. Denna morfologiska fenotyp överensstämmer med dess proteinuttrycksprofil. DNA-fingeravtrycksanalys av Hep-66.4A avslöjade inga större strukturella avvikelser, vilket tyder på en viss genomisk stabilitet. Vissa förändringar i de relativa intensiteterna för specifika band observerades dock med ökande passagenummer, vilket tyder på mindre genomisk variabilitet under längre odlingsperioder.

Trots att det inte fanns några påvisbara p53-mutationer i de primära levertumörerna hos mus, upptäcktes avvikelser i vissa hepatocellinjer under in vitro -förökning. Cellinjen Hep-66.4A analyserades med avseende på mutationer i generna p53 och c-Ha-ras. Avsaknaden av påvisbara mutationer i p53-genen i denna linje under tidiga passager tyder på en stabil genetisk bakgrund. Denna cellinje fungerar som en värdefull modell för att studera hepatocellulärt karcinom och ger insikter i de cellulära och molekylära mekanismer som ligger bakom tumöruppkomst i levern.

Organism

Mus

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulärt karcinom

Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

Egenskaper

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Vuxen

Gender

Kvinna

Morphology

Epitelliknande

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter

Hep-66.3A-celler | 400206

Citation Hep-66.3A (Cytion katalognummer 400206)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5771

Biomolekylära data

Protein expression Keratin 8, Keratin 18, Vimentin

Tumorigenic Ja, i B6C3F1-möss

Mutational profile P53 wt

Hantering

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

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:4 till 1:8 rekommenderas

Fluid renewal Var 3:e till 5:e dag

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Hep-66.3A-celler | 400206

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Hep-66.3A-celler | 400206

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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: -