

Bunky Hep-66.3A | 400206**Všeobecné informácie****Description**

Hepatómová bunková línia Hep-66.4A je odvodená z nádoru pečene myši, konkrétne z kmeňa C57BL/6J. Táto bunková línia sa vyznačuje hepatocytárnym pôvodom, ktorý sa potvrdil analýzou proteínov intermediárnych vlákien. Hep-66.4A exprimuje jednoduché keratíny K8 a K18, ktoré sú typické pre normálne pečenné bunky, ako aj vimentín a keratín K19 v rôznej miere. Tieto proteínové vzorce potvrdzujú hepatocytárny charakter bunkovej línie a jej klasifikáciu ako hepatómovej línie.

Bunková línia Hep-66.4A vykazuje prevažne epitelovú morfológiu, ktorá odráža jej pôvod z hepatocytov. Tento morfológický fenotyp je v súlade s jej profilom expície proteínov. Analýza odtlačkov DNA Hep-66.4A neodhalila žiadne väčšie štrukturálne abnormality, čo naznačuje určitý stupeň genomickej stability. S rastúcim počtom pasáží sa však pozorovali určité zmeny v relatívnej intenzite špecifických pásov, čo naznačuje menšiu genomickú variabilitu počas dlhších kultivačných období.

Napriek neprítomnosti zistiteľných mutácií p53 v primárnych nádoroch myšej pečene sa v niektorých hepatómových líniách počas množenia in vitro zistili aberácie. Bunková línia Hep-66.4A bola analyzovaná na mutácie v génoch p53 a c-Ha-ras. Neprítomnosť zistiteľných mutácií v géne p53 v tejto línii počas prvých pasáží naznačuje stabilné genetické pozadie. Táto bunková línia slúži ako cenný model na štúdium hepatocelulárneho karcinómu a poskytuje pohľad na bunkové a molekulárne mechanizmy, ktoré sú základom tumorigenézy pečene.

Organism Myš**Tissue** Pečeň**Disease** Hepatocelulárny karcinóm**Synonyms** HEP-66.3A, 66.3A**Charakteristika****Breed/Subspecies** C57BL/6J**Age** Dospelí**Gender** Ženy**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje**

Bunky Hep-66.3A | 400206**Citation** Hep-66.3A (katalógové číslo Cytion 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Keratín 8, keratín 18, vimentín**Tumorigenic** Áno, u myší B6C3F1**Mutational profile** P53 wt**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobu Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** Každých 3 až 5 dní**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky Hep-66.3A | 400206

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.