

Celice Hep-66.3A | 400206

Splošne informacije

Description

Hepatomska celična linija Hep-66.4A je pridobljena iz tumorja jeter miši, natančneje iz seva C57BL/6J. Za to celično linijo je značilno hepatocitno poreklo, ki je potrjeno z analizo proteinov vmesnih filamentov. Hep-66.4A izraža preprosta keratina K8 in K18, ki sta značilna za normalne jetrne celice, ter v različnem obsegu tudi vimentin in keratin K19. Ti proteinski vzorci potrjujejo hepatocitno naravo celične linije in njeno uvrstitev med hepatomske linije.

Celična linija Hep-66.4A ima pretežno epiteljsko morfologijo, kar kaže na njen izvor iz hepatocitov. Ta morfološki fenotip je skladen s profilom izražanja beljakovin. Analiza prstnih odtisov DNK Hep-66.4A ni razkrila nobenih večjih strukturnih nepravilnosti, kar kaže na določeno stopnjo genomske stabilnosti. Vendar pa so bile z naraščajočim številom prehodov opažene nekatere spremembe v relativni intenzivnosti določenih pasov, kar kaže na manjšo genomsko spremenljivost v daljših obdobjih gojenja.

Kljub odsotnosti zaznavnih mutacij p53 v primarnih tumorjih jeter miši so bile med razmnoževanjem in vitro pri nekaterih hepatomskih linijah ugotovljene aberacije. Celica Hep-66.4A je bila analizirana na mutacije v genih p53 in c-Ha-ras. Odsotnost zaznavnih mutacij v genu p53 v tej liniji v zgodnjih fazah kaže na stabilno genetsko ozadje. Ta celična linija služi kot dragocen model za preučevanje hepatocelularnega karcinoma in omogoča vpogled v celične in molekularne mehanizme, na katerih temelji tumorigeneza jeter.

Organism

Miška

Tissue

Jetra

Disease

Hepatocelularni karcinom

Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

Značilnosti

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Odrasli

Gender

Ženske

Morphology

Epitelijam podobni

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Celice Hep-66.3A | 400206**Citation** Hep-66.3A (katalogška številka Cytion 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Biomolekularni podatki****Protein expression** Keratin 8, keratin 18, vimentin**Tumorigenic** Da, pri miših B6C3F1**Mutational profile** P53 wt**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** Vsakih 3 do 5 dni**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice Hep-66.3A | 400206

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice Hep-66.3A | 400206

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.