

Hep-66.3A Hücreleri | 400206

Genel bilgi

Description

Hep-66.4A hepatoma hücre hattı bir fare karaciğer tümöründen, özellikle de C57BL/6J fare suşundan türetilmiştir. Bu hücre hattı, ara filament protein analizi ile doğrulanan hepatositik kökeni ile karakterize edilir. Hep-66.4A, normal karaciğer hücreleri için tipik olan basit keratin K8 ve K18'in yanı sıra değişen derecelerde vimentin ve keratin K19 ekspresyon eder. Bu protein paternleri hücre hattının hepatositik doğasını ve hepatoma hattı olarak sınıflandırılmasını doğrulamaktadır.

Hep-66.4A hücre hattı, hepatositlerden köken aldığını yansıtan, ağırlıklı olarak epitelyal bir morfoloji sergilemektedir. Bu morfolojik fenotip, protein ekspresyon profili ile tutarlıdır. Hep-66.4A'nın DNA parmak izi analizi, bir dereceye kadar genomik stabiliteye işaret eden herhangi bir önemli yapısal anormallik ortaya koymamıştır. Bununla birlikte, artan pasaj sayılarıyla belirli bantların göreceli yoğunluklarında bazı değişiklikler gözlenmiştir, bu da uzun kültür dönemlerinde küçük genomik değişkenlik olduğunu düşündürmektedir.

Birincil fare karaciğer tümörlerinde saptanabilir p53 mutasyonları olmamasına rağmen, in vitro çoğaltma sırasında bazı hepatoma hatlarında sapmalar bulunmuştur. Hep-66.4A hücre hattı p53 ve c-Ha-ras genlerindeki mutasyonlar açısından analiz edilmiştir. Erken pasajlar sırasında bu hatta p53 geninde saptanabilir mutasyonların olmaması, stabil bir genetik arka plana işaret etmektedir. Bu hücre hattı, hepatoselüler karsinomun incelenmesi için değerli bir model olarak hizmet etmekte ve karaciğer tümörigenezinin altında yatan hücre ve moleküler mekanizmalar hakkında bilgi sağlamaktadır.

Organism

Fare

Tissue

Karaciğer

Disease

Hepatoselüler karsinom

Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

Özellikler

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Yetişkin

Gender

Kadın

Morphology

Epitel benzeri

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Hep-66.3A Hücreleri | 400206**Citation** Hep-66.3A (Cytion katalog numarası 400206)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5771**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** Keratin 8, Keratin 18, Vimentin**Tumorigenic** Evet, B6C3F1 farelerinde**Mutational profile** P53 wt**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspense etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspense edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** Her 3 ila 5 günde bir**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Hep-66.3A Hücreleri | 400206

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Hep-66.3A Hücreleri | 400206

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.