

## Клітини гепатиту 66.3A | 400206

## Загальна інформація

## Description

Клітинну лінію гепатоми Hep-66.4A отримано з пухлини печінки миші, а саме зі штаму миші C57BL/6J. Ця клітинна лінія характеризується гепатоцитарним походженням, підтвердженим за допомогою аналізу білка проміжних філаментів. Hep-66.4A експресує прості кератини K8 і K18, які є типовими для нормальних клітин печінки, а також віментин і кератин K19 в різному ступені. Ці білкові патерни підтверджують гепатоцитарну природу клітинної лінії та її класифікацію як лінії гепатоми.

Клітинна лінія Hep-66.4A має переважно епітеліальну морфологію, що відображає її походження з гепатоцитів. Цей морфологічний фенотип узгоджується з профілем експресії білків. Аналіз ДНК-відбитків Hep-66.4A не виявив жодних серйозних структурних аномалій, що свідчить про певну стабільність геному. Однак спостерігалися деякі зміни у відносній інтенсивності специфічних смуг зі збільшенням кількості пасажів, що свідчить про незначну геномну мінливість протягом тривалого періоду культивування.

Незважаючи на відсутність виявлених мутацій p53 в первинних пухлинах печінки мишей, в деяких лініях гепатоми були виявлені аберації під час розмноження *in vitro*. Клітинну лінію Hep-66.4A було проаналізовано на наявність мутацій в генах p53 та c-Ha-ras. Відсутність виявлених мутацій в гені p53 в цій лінії на ранніх стадіях пасажування свідчить про стабільний генетичний фон. Ця клітинна лінія слугує цінною моделлю для вивчення гепатоцелюлярної карциноми, забезпечуючи розуміння клітинних і молекулярних механізмів, що лежать в основі пухлиноутворення в печінці.

<b>Organism</b>	Миша
<b>Tissue</b>	Печінка
<b>Disease</b>	Гепатоцелюлярна карцинома
<b>Synonyms</b>	HEP-66.3A, 66.3A

## Характеристики

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Дорослий
<b>Gender</b>	Жінка
<b>Morphology</b>	Епітеліальноподібні
<b>Growth properties</b>	Адепт

## Клітини гепатиту 66.3A | 400206

## Нормативні дані

<b>Citation</b>	Нер-66.3A (номер за каталогом Cytion 400206)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5771

## Біомолекулярні дані

<b>Protein expression</b>	Кератин 8, Кератин 18, Віментин
<b>Tumorigenic</b>	Так, у мишей B6C3F1
<b>Mutational profile</b>	P53 мас

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
<b>Supplements</b>	Додайте до середовища 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Аккутаза
<b>Subculturing</b>	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хг протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
<b>Fluid renewal</b>	Кожні 3-5 днів

## Клітини гепатиту 66.3A | 400206

### Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

## Клітини гепатиту 66.3A | 400206

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.