

Cellules Hep-66.3A | 400206

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire d'hépatome Hep-66.4A est issue d'une tumeur hépatique de souris, plus précisément de la souche C57BL/6J. Cette lignée cellulaire se caractérise par son origine hépatocytaire, confirmée par l'analyse des protéines des filaments intermédiaires. La lignée Hep-66.4A exprime les kératines simples K8 et K18, caractéristiques des cellules hépatiques normales, ainsi que la vimentine et la kératine K19 à des degrés divers. Ces profils protéiques confirment la nature hépatocytaire de la lignée cellulaire et sa classification comme lignée d'hépatome.

La lignée cellulaire Hep-66.4A présente une morphologie principalement épithéliale, reflétant son origine hépatocytaire. Ce phénotype morphologique concorde avec son profil d'expression protéique. L'analyse par empreinte génétique de la lignée Hep-66.4A n'a révélé aucune anomalie structurelle majeure, ce qui indique un certain degré de stabilité génomique. Toutefois, certains changements dans les intensités relatives de bandes spécifiques ont été observés à mesure que le nombre de passages augmentait, ce qui suggère une variabilité génomique mineure au cours de longues périodes de culture.

Malgré l'absence de mutations détectables du gène p53 dans les tumeurs hépatiques primaires de souris, des aberrations ont été observées dans certaines lignées d'hépatomes au cours de leur propagation in vitro. La lignée cellulaire Hep-66.4A a fait l'objet d'une analyse visant à détecter des mutations dans les gènes p53 et c-Ha-ras. L'absence de mutations détectables dans le gène p53 de cette lignée au cours des premiers passages suggère un fond génétique stable. Cette lignée cellulaire constitue un modèle précieux pour l'étude du carcinome hépatocellulaire, fournissant des informations sur les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-jacents à la tumorigenèse hépatique.

Organism

Souris

Tissue

Foie

Disease

Carcinome hépatocellulaire

Synonyms

HEP-66.3A, 66.3A

Caractéristiques

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Adulte

Gender

Femme

Morphology

De type épithélial

Growth properties

Adepte

Cellules Hep-66.3A | 400206

Données réglementaires

Citation	Hep-66.3A (numéro de catalogue Cytion 400206)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5771

Données biomoléculaires

Protein expression	Kératine 8, Kératine 18, Vimentine
Tumorigenic	Oui, chez les souris B6C3F1
Mutational profile	P53 de type sauvage

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Fluid renewal	Tous les 3 à 5 jours

Cellules Hep-66.3A | 400206

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules Hep-66.3A | 400206

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.