

Tế bào Hep-66.3A | 400206

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào ung thư gan Hep-66.4A được phân lập từ khối u gan của chuột, cụ thể là từ dòng chuột C57BL/6J. Dòng tế bào này có nguồn gốc từ tế bào gan, được xác nhận thông qua phân tích protein sợi trung gian. Hep-66.4A biểu hiện các keratin đơn giản K8 và K18, đặc trưng cho tế bào gan bình thường, cũng như vimentin và keratin K19 ở mức độ khác nhau. Các mẫu protein này xác nhận bản chất tế bào gan của dòng tế bào và phân loại nó là dòng tế bào ung thư gan.

Dòng tế bào Hep-66.4A có hình thái chủ yếu là biểu mô, phản ánh nguồn gốc từ tế bào gan. Hình thái này nhất quán với hồ sơ biểu hiện protein của nó. Phân tích dấu vân tay DNA của Hep-66.4A không cho thấy bất kỳ bất thường cấu trúc lớn nào, cho thấy mức độ ổn định gen. Tuy nhiên, một số thay đổi trong cường độ tương đối của các dải cụ thể đã được quan sát thấy khi số lần truyền tăng lên, gợi ý sự biến đổi gen nhẹ trong thời gian nuôi cấy kéo dài.

Mặc dù không phát hiện được đột biến p53 trong các khối u gan chuột nguyên phát, nhưng một số đột biến đã được tìm thấy trong một số dòng tế bào ung thư gan trong quá trình nuôi cấy in vitro. Dòng tế bào Hep-66.4A đã được phân tích về các đột biến trong gen p53 và c-Ha-ras. Sự vắng mặt của các đột biến có thể phát hiện được trong gen p53 trong dòng tế bào này trong các lần truyền ban đầu cho thấy một nền tảng di truyền ổn định. Dòng tế bào này là một mô hình quý giá để nghiên cứu ung thư gan tế bào, cung cấp những hiểu biết về các cơ chế tế bào và phân tử cơ bản của quá trình hình thành khối u gan.

Organism Chuột

Tissue Gan

Disease Ung thư tế bào gan

Synonyms HEP-66.3A, 66.3A

Đặc điểm

Breed/Subspecies C57BL/6J

Age Người lớn

Gender Nữ

Morphology Tương tự biểu mô

Growth properties Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Tế bào Hep-66.3A | 400206

Citation	Hep-66.3A (Số catalog Cytion 400206)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5771

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin
Tumorigenic	Đúng, ở chuột B6C3F1
Mutational profile	P53 dạng hoang dã

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO ₃ , chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Fluid renewal	Mỗi 3 đến 5 ngày
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào Hep-66.3A | 400206

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào Hep-66.3A | 400206

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.