

Buňky Hep-56.1D | 400204

Obecné informace

Description

Hepatomová buněčná linie Hep-56.1D je odvozena z myšího jaterního nádoru, konkrétně z myšího kmene C57BL/6J. Tato buněčná linie se vyznačuje nápadnou mutací v genu p53, která byla identifikována v různých fázích množení in vitro. Konkrétně Hep-56.1D vykazuje transverzi C:G na G:C v kodonu 132 exonu 5, což vede ke změně aminokyseliny z cysteinu na tryptofan. Tato mutace byla zjištěna při pasáži číslo 17, což naznačuje selektivní růstovou výhodu, kterou mutace poskytuje, a vede k její převaze v populaci buněk.

Buněčná linie Hep-56.1D vykazuje převážně epiteliální morfologii, což odráží její hepatocytární původ. To odpovídá jejímu profilu proteinů intermediárních vláken, který zahrnuje jednoduché keratiny K8 a K18, jakož i vimentin a keratin K19 v různé míře. Přítomnost těchto proteinů potvrzuje hepatocytární povahu buněčné linie a její zařazení mezi hepatomy.

Další analýza Hep-56.1D pomocí DNA fingerprintingu neodhalila žádné zásadní strukturální abnormality, ačkoli s rostoucím počtem pasáží byly pozorovány určité změny v relativní intenzitě specifických pásů. To naznačuje genomickou stabilitu s určitou mírou variability během delšího kultivačního období. Analýza mutací p53 a vzorce exprese proteinů intermediárních vláken společně stanovují Hep-56.1D jako cenný model pro studium hepatocelulárního karcinomu a úlohy mutací p53 v jaterní tumorigenezi.

Organism	Myš
Tissue	Játra
Disease	Hepatocelulární karcinom
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Charakteristika

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Dospělí
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Buňky Hep-56.1D | 400204

Citation Hep-56.1D (katalogové číslo Cytion 400204)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5769

Biomolekulární data

Protein expression Keratin 8, keratin 18, vimentin.**Tumorigenic** Ano, u myši C57BL/6J. Ve třetím týdnu se vytvoří nádory o průměru přibližně 5-6 mm.**Ploidy status** Aneuploidní**Mutational profile** P53mut, transverze C:G → G:C v kodonu 132 exonu 5 myšního p53, která odpovídá změně aminokyseliny z cysteinu na tryptofan.

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 25 až 30 hodin**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8

Buňky Hep-56.1D | 400204

Seeding density 1 až 2×10^4 buněk/cm² během rutinní kultivace

Fluid renewal Každé 3 až 4 dny

Post-Thaw Recovery > 90 % buněk se zotaví z procesu zmrazování během 24 až 48 hodin

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstané malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Buňky Hep-56.1D | 400204**Flask Coating** Žádný**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

M_18-3: 16
M_4-2: 20.3
M_6-7: 17
M_3-2: 14
M_19-2: 13
M_7-1: 26.2
M_1-1: 16
M_8-1: 16
M_2-1: 15
M_15-3: 22.3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 19
M_17-2: 15
M_12-1: 17
M_5-5: 17
M_X-1: 28
M_13-1: 17
Human D4/D8: -