

Hep-56.1D-celler | 400204

Generel information

Description

Hep-56.1D-hepatomcellelinjen stammer fra en muselever tumor, specifikt fra C57BL/6J-musestammen. Denne cellelinje er kendetegnet ved en bemærkelsesværdig mutation i p53-genet, der er identificeret ved forskellige passager under in vitro-opformering. Specifikt udviser Hep-56.1D en C:G til G:C-transversion ved codon 132 i exon 5, hvilket resulterer i en aminosyreændring fra cystein til tryptofan. Denne mutation blev opdaget ved passage nummer 17, hvilket tyder på en selektiv vækstfordel, som mutationen giver, og som fører til dens overvægt i cellepopulationen.

Hep-56.1D-cellelinjen har en overvejende epitelial morfologi, som afspejler dens hepatocytiske oprindelse. Dette er i overensstemmelse med dens intermediære filamentproteinprofil, som omfatter de simple keratiner K8 og K18 samt vimentin og keratin K19 i varierende grad. Tilstedeværelsen af disse proteiner bekræfter cellelinjens hepatocytiske natur og dens klassificering som en hepatomlinje.

Yderligere analyse af Hep-56.1D ved hjælp af DNA-fingeraftryk afslørede ingen større strukturelle abnormiteter, selvom der blev observeret nogle ændringer i de relative intensiteter af specifikke bånd med stigende antal passager. Dette indikerer genomisk stabilitet med en vis grad af variabilitet over længere dyrkningsperioder. Analysen af p53-mutationer og ekspressionsmønstre for intermediære filamentproteiner etablerer tilsammen Hep-56.1D som en værdifuld model til undersøgelse af hepatocellulært karcinom og p53-mutationers rolle i tumorgenese i leveren.

Organism

Mus

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulært karcinom

Synonyms

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Karakteristika

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Voksen

Gender

Kvinde

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Hep-56.1D-celler | 400204

Citation Hep-56.1D (Cytion katalognummer 400204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5769

Biomolekylære data

Protein expression Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.

Tumorigenic Ja, i C57BL/6J-mus. I den tredje uge udvikles tumorer, som er ca. 5-6 mm i diameter.

Ploidy status Aneuploid

Mutational profile P53mut, C:G → G:C-transversion ved codon 132 i musens p53 exon 5, hvilket svarer til en aminosyreændring fra cystein til tryptofan.

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 25 til 30 timer

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 1 til 2×10^4 celler/cm² under rutinemæssig dyrkning

Hep-56.1D-celler | 400204**Fluid renewal** Hver 3. til 4. dag**Post-Thaw Recovery** >90 % af cellerne blev gendannet fra fryseprocessen inden for 24 til 48 timer**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryoviolet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befugtet atmosfære.**Flask Coating** Ingen

Hep-56.1D-celler | 400204

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.