

Hep-56.1D-Zellen | 400204

Allgemeine Informationen

Description

Die Hep-56.1D Hepatom-Zelllinie stammt von einem Lebertumor der Maus, insbesondere vom C57BL/6J-Mausstamm. Diese Zelllinie zeichnet sich durch eine bemerkenswerte Mutation im p53-Gen aus, die bei verschiedenen Passagen während der In-vitro-Vermehrung festgestellt wurde. Insbesondere weist Hep-56.1D eine C:G-zu-G:C-Transversion am Codon 132 des Exons 5 auf, was zu einem Aminosäurewechsel von Cystein zu Tryptophan führt. Diese Mutation wurde bei Passage Nummer 17 entdeckt, was auf einen selektiven Wachstumsvorteil durch die Mutation hindeutet, der zu ihrer Dominanz in der Zellpopulation führt.

Die Zelllinie Hep-56.1D weist eine überwiegend epitheliale Morphologie auf, was auf ihren hepatozytären Ursprung hinweist. Dies steht im Einklang mit ihrem Intermediärfilament-Proteinprofil, das die einfachen Keratine K8 und K18 sowie Vimentin und Keratin K19 in unterschiedlichem Ausmaß enthält. Das Vorhandensein dieser Proteine bestätigt die hepatozytäre Natur der Zelllinie und ihre Klassifizierung als Hepatomlinie.

Weitere Analysen von Hep-56.1D mittels DNA-Fingerprinting ergaben keine größeren strukturellen Anomalien, obwohl mit zunehmender Passagezahl einige Veränderungen in der relativen Intensität spezifischer Banden beobachtet wurden. Dies deutet auf eine genomische Stabilität mit einem gewissen Grad an Variabilität über längere Kulturzeiträume hin. Die p53-Mutationsanalyse und die Expressionsmuster des Intermediärfilamentproteins machen Hep-56.1D zu einem wertvollen Modell für die Untersuchung des hepatozellulären Karzinoms und der Rolle von p53-Mutationen bei der Lebertumorentstehung.

Organism

Maus

Tissue

Leber

Disease

Hepatozelluläres Karzinom

Synonyms

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Merkmale

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Erwachsener

Gender

Weiblich

Morphology

Epithelähnlich

Growth properties

Adhärent

Regulatorische Daten

Hep-56.1D-Zellen | 400204**Citation** Hep-56.1D (Cytion Katalognummer 400204)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5769**Biomolekulare Daten****Protein expression** Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.**Tumorigenic** Ja, bei C57BL/6J-Mäusen. In der dritten Woche entwickeln sich Tumore mit einem Durchmesser von ca. 5-6 mm.**Ploidy status** Aneuploid**Mutational profile** P53mut, C:G → G:C-Transversion am Codon 132 des Maus-p53-Exons 5, was einem Aminosäurewechsel von Cystein zu Tryptophan entspricht.**Handhabung****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 25 bis 30 Stunden**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:8

Hep-56.1D-Zellen | 400204

Seeding density 1 bis 2×10^4 Zellen/cm² während der Routinekultur

Fluid renewal Alle 3 bis 4 Tage

Post-Thaw Recovery >90% der Zellen erholten sich innerhalb von 24 bis 48 Stunden vom Einfrierprozess

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre.

Hep-56.1D-Zellen | 400204

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Hep-56.1D-Zellen | 400204

STR-Profil	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: -