

Κύτταρα Hep-56.1D | 400204

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά ηπατώματος Hep-56.1D προέρχεται από όγκο του ήπατος ποντικού, συγκεκριμένα από το στέλεχος ποντικού C57BL/6J. Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από μια αξιοσημείωτη μετάλλαξη στο γονίδιο p53, η οποία εντοπίστηκε σε διάφορα περάσματα κατά τον *in vitro* πολλαπλασιασμό. Συγκεκριμένα, το Hep-56.1D παρουσιάζει μεταστροφή από C:G σε G:C στο κωδικόνιο 132 του εξονίου 5, με αποτέλεσμα την αλλαγή αμινοξέος από κυστεΐνη σε τρυπτοφάνη. Η μετάλλαξη αυτή ανιχνεύθηκε στον αριθμό διέλευσης 17, γεγονός που υποδηλώνει ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα ανάπτυξης που παρέχει η μετάλλαξη, οδηγώντας στην επικράτησή της στον κυτταρικό πληθυσμό.

Η κυτταρική σειρά Hep-56.1D εμφανίζει κυρίως επιθηλιακή μορφολογία, γεγονός που αντανακλά την ηπατοκυτταρική της προέλευση. Αυτό συνάδει με το πρωτεϊνικό προφίλ των ενδιάμεσων νηματίων της, το οποίο περιλαμβάνει τις απλές κερατίνες K8 και K18, καθώς και βιμεντίνη και κερατίνη K19 σε διαφορετικό βαθμό. Η παρουσία αυτών των πρωτεϊνών επιβεβαιώνει την ηπατοκυτταρική φύση της κυτταρικής σειράς και την ταξινόμησή της ως ηπατώματος.

Η περαιτέρω ανάλυση της Hep-56.1D με τη χρήση δακτυλικών αποτυπωμάτων DNA δεν αποκάλυψε σημαντικές δομικές ανωμαλίες, αν και παρατηρήθηκαν ορισμένες αλλαγές στις σχετικές εντάσεις συγκεκριμένων ζωνών με την αύξηση του αριθμού διέλευσης. Αυτό υποδηλώνει γονιδιωματική σταθερότητα με κάποιο βαθμό μεταβλητότητας για παρατεταμένες περιόδους καλλιέργειας. Η ανάλυση των μεταλλάξεων του p53 και τα πρότυπα έκφρασης των πρωτεϊνών των ενδιάμεσων νηματίων μαζί καθιερώνουν το Hep-56.1D ως ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και του ρόλου των μεταλλάξεων του p53 στην καρκινογένεση του ήπατος.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Ήπαρ

Disease

Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

Synonyms

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Ενηλίκων

Gender

Γυναίκα

Morphology

Επιθηλιοειδής

Growth properties

Προσκολλημένο

Κύτταρα Hep-56.1D | 400204

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Hep-56.1D (αριθμός καταλόγου Cytion 400204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5769

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	Κερατίνη 8, Κερατίνη 18, Βιμεντίνη.
Tumorigenic	Ναι, σε ποντίκια C57BL/6J. Την τρίτη εβδομάδα θα αναπτυχθούν όγκοι διαμέτρου περίπου 5-6 mm.
Ploidy status	Ανευπλοειδές
Mutational profile	P53mut, μεταστροφή C:G → G:C στο κωδικόνιο 132 του εξονίου 5 του p53 ποντικού, η οποία αντιστοιχεί σε αλλαγή αμινοξέος από κυστεΐνη σε τρυπτοφάνη.

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 έως 30 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα Hep-56.1D | 400204

Seeding density 1 έως 2×10^4 κύτταρα/cm² κατά τη διάρκεια της συνήθους καλλιέργειας

Fluid renewal Κάθε 3 έως 4 ημέρες

Post-Thaw Recovery >90% των κυττάρων που ανακτήθηκαν από τη διαδικασία κατάψυξης εντός 24 έως 48 ωρών

Freeze medium Ως μέσο κρυσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα Hep-56.1D | 400204

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.