

Hep-56.1D rakud | 400204

Üldine teave

Description

Hep-56.1D hepatoomi rakuliin on saadud hiirte maksakasvajast, täpsemalt C57BL/6J hiirtüvest. Seda rakuliini iseloomustab märkimisväärne mutatsioon p53 geenis, mis on tuvastatud erinevates etappides in vitro paljundamise käigus. Konkreetselt on Hep-56.1D-l ekson 5 koodonis 132 C:G-G:C transversioon, mille tulemuseks on aminohappe muutus tsüsteiinist trüptofaaniks. See mutatsioon avastati 17. läbipääsul, mis viitab mutatsioonist tulenevale selektiivsele kasvueelisele, mis põhjustab selle ülekaalu rakupopulatsioonis.

Hep-56.1D rakuliinil on valdavalt epiteliaalne morfoloogia, mis peegeldab selle hepatotsüütilist päritolu. See on kooskõlas selle vahepealsete filamentide valkude profiiliga, mis sisaldab lihtsaid keratiini K8 ja K18, samuti vimentiini ja keratiini K19 erineval määral. Nende valkude olemasolu kinnitab rakuliini hepatotsüütilist olemust ja selle liigitamist hepatoomi liiniks.

Hep-56.1D edasine analüüs DNA-sõrmejälgede abil ei näidanud mingeid olulisi struktuurilisi kõrvalekaldeid, kuigi teatud muutused spetsiifiliste ribade suhtelises intensiivsuses täheldati läbimise arvu suurenemisel. See viitab genoomi stabiilsusele koos mõningase varieeruvusega pikema kasvatusperioodi jooksul. P53-mutatsioonide analüüs ja vahepealsete filamentide valkude ekspressioonimustrid kinnitavad, et Hep-56.1D on väärtuslik mudel hepatotsellulaarse kartsinoomi ja p53-mutatsioonide rolli uurimiseks maksakasvajate tekkimisel.

Organism	Hiir
Tissue	Maksa
Disease	Hepatotsellulaarne kartsinoom
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Omadused

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Täiskasvanud
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Hep-56.1D rakud | 400204

Citation Hep-56.1D (Cytioni katalooginumber 400204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5769

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression Keratiin 8, keratiin 18, vimentiin.

Tumorigenic Jah, C57BL/6J hiirtel. Kolmandal nädalal tekivad umbes 5-6 mm läbimõõduga kasvavad.

Ploidy status Aneuploidne

Mutational profile P53mut, C:G → G:C transversioon hiire p53 5. eksoni 132 koodonis, mis vastab aminohappe muutusele tsüsteiinist trüptofaaniks.

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 25-30 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1 kuni 2×10^4 rakku/cm² tavapärase kultuuri ajal

Hep-56.1D rakud | 400204**Fluid renewal** Iga 3 kuni 4 päeva tagant**Post-Thaw Recovery** >90% rakkudest taastub külmutamisest 24-48 tunni jooksul**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernetant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.**Flask Coating**Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Hep-56.1D rakud | 400204

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.