

Hep-56.1B rakud | 400202

Üldine teave

Description

Hep-70.4 hepatoomi rakuliin on saadud hiire maksakasvajast, täpsemalt hiiretüvest C57BL/6J. See rakuliin on märkimisväärne p53-geeni mutatsioonide poolest, mis tuvastati erinevates etappides in vitro paljundamise käigus. Passaazi nr 8 juures tuvastati üksikahela konformatsioonipolümorfismi (SSCP) analüüsis nõrk lisasignaali, mis viitab p53-mutatsiooni olemasolule. Passaazinumbri 38 tuvastati kaks erinevat p53 punktmutatsiooni: G:C-lt C:G-transversioon koodonis 135 ja C:G-lt G:C-transversioon ekson 5 koodonis 138. Seejuures tuvastati kaks p53 punktmutatsiooni: G:C-lt C:G-transversioon ekson 5 koodonis 138. Need mutatsioonid põhjustasid aminohapete muutumise vastavaltalaniinist proliiniks ja tsüsteiinist trüptofaaniks.

Hep-70.4 rakuliinil on morfoloogiline fenotüüp, mis varieerub oluliselt selle paljunemise ajal. Mõned alaliigid on epiteeli morfoloogiaga, teised aga fibroblastilaadse välisusega. Selline heterogeensus peegeldab rakuliini keerulist olemust ja selle kohanemisvõimet erinevates kasvatustingimustes. Nii normaalsete kui ka muteerunud p53-alleelide esinemine varajases faasis viitab sellele, et mutatsioonid annavad selektiivse kasvuelise, mis viib aja jooksul muteerunud kloonide domineerimiseni.

Hep-70.4 rakuliini vahepealsete filamentide valkude analüüs näitas normaalsetele maksarakkudele iseloomulike lihtsate keratiinide K8 ja K18, samuti vimentiini ja keratiini K19 ekspressiooni erineval määral. Need valgumustrid kinnitavad rakuliini hepatotsütaarset päritolu ja selle liigitamist hepatoomiliiniks. Hep-70.4 genoomi stabiilsust hinnati täiendavalt DNA sõrmejälje analüüsi abil, mis ei näidanud mingeid olulisi struktuurilisi kõrvalekaldeid, kuigi teatud ribade suhtelise intensiivsuse muutusi täheldati läbimise arvu suurenemisel.

Organism	Hiir
Tissue	Maksa
Disease	Hepatotsellulaarne kartsinoom
Synonyms	HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

Omadused

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

Hep-56.1B rakud | 400202

Regulatiivsed andmed

Citation	Hep-56.1B (Cytioni katalooginumber 400202)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5767

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Keratiin 8, keratiin 18, vimentiin.
Tumorigenic	Jah, C57BL/6J hiirtel
Mutational profile	P53mut (koodon 277 eksonis 8 => Arginin -- Threonin).

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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 x 10 ⁴ rakku/cm ²
Fluid renewal	Iga 3 kuni 5 päeva tagant

Hep-56.1B rakud | 400202

Post-Thaw Recovery

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial 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 vial 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 vial 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 supernatant 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-56.1B rakud | 400202

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.