

Hep-56.1B-solut | 400202

Yleisiä tietoja

Description

Hep-70.4-hepatoomasolulinja on peräisin hiiren maksakasvaimesta, erityisesti C57BL/6J-hiirikannasta. Tämä solulinja on tunnettu p53-geenin mutaatioista, jotka tunnistettiin eri vaiheissa in vitro -lisäyksen aikana. Läpiviennissä numero 8 havaittiin heikko lisäsignaali yhden säikeen konformaatiopolymorfismianalysissä (SSCP), joka osoitti p53-mutaation olemassaolon. Läpikäyntinumeroon 38 mennessä tunnistettiin kaksi erillistä p53-pistemutaatiota: G:C:stä C:G:ksi transversio koodonissa 135 ja C:G:stä G:C:ksi transversio eksoni 5:n koodonissa 138. Nämä mutaatiot johtivat aminohappojen vaihtumiseen alaniinista proliiniksi ja kysteiinistä tryptofaaniksi.

Hep-70.4-solulinjalla on morfologinen fenotyyppi, joka vaihtelee merkittävästi sen lisääntymisen aikana. Joillakin alalinjoilla on epiteelimorfologia, kun taas toisilla on fibroblastimainen ulkonäkö. Tämä heterogeenisuus kuvastaa solulinjan monimutkaista luonnetta ja sen sopeutumiskykyä erilaisissa viljelyolosuhteissa. Sekä normaalien että mutatoituneiden p53-alleelien esiintyminen varhaisissa vaiheissa viittaa siihen, että mutaatiot antavat valikoivan kasvuedun, joka johtaa ajan mittaan mutatoituneiden kloonien vallitsevuuteen.

Hep-70.4-solulinjan intermediaattisäikeiden proteiinianalyysi paljasti, että solulinjassa ilmentyi normaaleille maksasoluille tyypillisiä yksinkertaisia keratiineja K8 ja K18 sekä vaihtelevassa määrin vimentiniä ja keratiinia K19. Nämä proteiinimallit vahvistavat solulinjan hepatosyyttisen alkuperän ja sen luokittelun hepatoomalinjaksi. Hep-70.4:n genomista vakautta arvioitiin edelleen DNA-sormenjälkianalysillä, joka ei paljastanut merkittäviä rakenteellisia poikkeavuuksia, vaikka tiettyjen kaistojen suhteellisessa intensiteetissä havaittiin muutoksia läpivirtauslukujen kasvaessa.

Organism	Hiiri
Tissue	Maksa
Disease	Hepatosellulaarinen karsinooma
Synonyms	HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b, 56.1b

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Aikuiset
Gender	Nainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Tarttuva

Hep-56.1B-solut | 400202

Säätelytiedot

Citation	Hep-56.1B (Cytionin luettelonumero 400202)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5767

Biomolekyyli tiedot

Protein expression	Keratiini 8, keratiini 18, vimentini.
Tumorigenic	Kyllä, C57BL/6J-hiirillä
Mutational profile	P53mut (koodoni 277 eksonissa 8 => arginiini -- treoniini).

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.
Seeding density	1×10^4 solua/cm ²
Fluid renewal	3-5 päivän välein

Hep-56.1B-solut | 400202

Post-Thaw Recovery

Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Hep-56.1B-solut | 400202

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.