

Hep-56.1C sejtek | 400203

Általános információk

Description

A Hep-56.1c hepatóma sejtvonala egér májtumorból származik, kifejezetten a C57BL/6J egértörzsből. Ezt a sejtvonala a p53 gén egy jelentős mutációja jellemzi, amelyet az in vitro szaporítás során különböző passzázásokban azonosítottak. Konkrétan a Hep-56.1c az 5. exon 132-es kodonjánál C:G-ről G:C-re történő transzverziót mutat, ami ciszteinről triptofánra történő aminosavváltást eredményez. Ezt a mutációt a 17. passzázatszámánál észlelték, ami a mutáció által biztosított szelektív növekedési előnyre utal, ami a sejtpopulációban való túlsúlyához vezet.

A Hep-56.1c sejtvonala túlnyomórészt epiteliális morfológiát mutat, ami hepatocita eredetét tükrözi. Ez összhangban van az intermedier filamentum fehérjeprofiliájával, amely tartalmazza az egyszerű keratinokat K8 és K18, valamint a vimentint és a keratin K19-et különböző mértékben. E fehérjék jelenléte megerősíti a sejtvonala hepatocita jellegét és hepatóma vonalnak való besorolását.

A Hep-56.1c további, DNS-ujjlenyomat-elemzéssel végzett elemzése nem mutatott ki jelentős szerkezeti eltéréseket, bár az egyes sávok relatív intenzitásában a passzázatszám növekedésével bizonyos változásokat figyeltünk meg. Ez genomikai stabilitásra utal, bizonyos fokú változékonysággal a hosszabb tenyésztési időszakok alatt. A p53 mutációelemzés és az intermedier filamentum fehérje expressziós mintázatok együttesen a Hep-56.1c-t értékes modellként határozzák meg a hepatocelluláris karcinóma és a p53 mutációk májtumorigenezisben betöltött szerepének tanulmányozására.

Organism

Egér

Tissue

Máj

Disease

Hepatocelluláris karcinóma

Synonyms

HEP-56.1C, 56.1C, 56.1c, 56.1c

Jellemzők

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Felnőtt

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Hep-56.1C sejtek | 400203

Citation	Hep-56.1C (Cytion katalógusszám 400203)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5768

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^4 sejt/cm ²
Fluid renewal	3-5 naponta
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm ² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Hep-56.1C sejtek | 400203

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párásított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Hep-56.1C sejtek | 400203

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.