

Hep-55.1C sejtek | 400201

Általános információk

Description

A Hep-55.1c hepatóma sejtvonal egér májtumorból származik, kifejezetten a C57BL/6J egértörzsből. Ezt a sejtvonalat a hepatocita eredet jellemzi, amit az intermedier filamentum fehérje analízisével igazoltak. A Hep-55.1c expresszálja a normális májsejtekre jellemző K8 és K18 egyszerű keratinokat, valamint különböző mértékben a vimentint és a K19 keratint. Ezek a fehérjemintázatok megerősítik a sejtvonal hepatocita jellegét és hepatóma vonalnak való besorolását.

A Hep-55.1c sejtvonal túlnyomórészt epiteliális morfológiát mutat, ami a hepatocitákból való származását tükrözi. Ez a morfológiai fenotípus összhangban van a fehérjeexpressziós profiljával. A Hep-55.1c DNS-ujjlenyomat-elemzése nem mutatott ki jelentős szerkezeti eltéréseket, ami bizonyos fokú genomikai stabilitásra utal. Ugyanakkor bizonyos sávok relatív intenzitásának változásait figyeltük meg a növekvő passzázsszámmal, ami kisebb genomiális variabilitásra utal a hosszabb tenyésztési időszakok alatt.

Annak ellenére, hogy a primer egér májtumorokban nem voltak kimutatható p53 mutációk, néhány hepatoma vonalban in vitro szaporítás során aberrációkat találtak. A Hep-55.1c sejtvonalat elemezték a p53 és a c-Ha-ras gének mutációi szempontjából. A p53 gén kimutatható mutációinak hiánya ebben a vonalban a korai passzázssok során stabil genetikai háttérre utal. Ez a sejtvonal értékes modellként szolgál a hepatocelluláris karcinóma tanulmányozására, betekintést nyújtva a máj tumorigenezisének hátterében álló sejtes és molekuláris mechanizmusokba.

Organism

Egér

Tissue

Máj

Disease

Hepatocelluláris karcinóma

Synonyms

HEP-55.1C, 55.1C

Jellemzők

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Felnőtt

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Hep-55.1C sejtek | 400201

Citation Hep-55.1C (Cytion katalógusszám 400201)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5766

Biomolekuláris adatok

Protein expression Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.**Tumorigenic** Igen, C57BL/6J egerekben**Mutational profile** P53 wt

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, 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.**Fluid renewal** 3-5 naponta**Post-Thaw Recovery** Kezdje el a tenyésztést a kriovialból $3-4 \times 10^4$ sejt/cm² sejtsűrűséggel. A sejtek 24-48 órán belül helyreállnak.

Hep-55.1C sejtek | 400201

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás 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.

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 fertőtlenítjük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót 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 sejtpelletet 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 sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat 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-55.1C sejtek | 400201

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat 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 és molekuláris elemzés

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.