

Hep-56.1D sejtek | 400204

Általános információk

Description

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

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

A Hep-56.1D további, DNS-ujjlenyomat-elemzéssel végzett elemzése nem mutatott ki jelentős szerkezeti rendellenességeket, bár az egyes sávok relatív intenzitásában a passzázsszám növekedésével bizonyos változásokat figyeltünk meg. Ez genomikai stabilitásra utal, bizonyos fokú változékonysággal a hosszabb tenyésztési időszakok alatt. A p53 mutációelemzés és az intermedier filament fehérje expressziós mintázatok együttesen a Hep-56.1D-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-56.1D, 56.1D, 56.1d, 56.1d

Jellemzők

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Felnőtt

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Hep-56.1D sejtek | 400204

Citation	Hep-56.1D (Cytion katalógusszám 400204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5769

Biomolekuláris adatok

Protein expression	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.
Tumorigenic	Igen, C57BL/6J egerekben. A harmadik héten kb. 5-6 mm átmérőjű tumorok alakulnak ki.
Ploidy status	Aneuploid
Mutational profile	P53mut, C:G → G:C transzverzió az egér p53 5. exonjának 132-es kodonjánál, ami egy aminosavcserének felel meg, ciszteinről triptofánra.

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
Doubling time	25-30 óra
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	1–2 x 10 ⁴ sejt/cm ² rutin tenyésztés során

Hep-56.1D sejtek | 400204**Fluid renewal** 3-4 naponta**Post-Thaw Recovery** a sejtek >90%-a 24-48 órán belül visszanyerte a fagyasztásból származó sejteket**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.**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 krioüklét 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 sejt kölcsönhatás 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.**Flask Coating** Nincs

Hep-56.1D sejtek | 400204

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.

Shipping Conditions

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.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 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.