

Hep-56.1D šūnas | 400204

Vispārīga informācija

Description

Hep-56.1D hepatomas šūnu līnija ir iegūta no peļu aknu audzēja, konkrēti no C57BL/6J peļu celma. Šai šūnu līnijai ir raksturīga ievērojama mutācija p53 gēnā, kas konstatēta dažādos in vitro pavairošanas posmos. Konkrēti, Hep-56.1D piemīt C:G uz G:C transversija 5. eksona 132. kodonā, kā rezultātā aminoskābe mainās no cisteīna uz triptofānu. Šī mutācija tika konstatēta 17. pārejā, kas liecina par mutācijas radītu selektīvu augšanas priekšrocību, kas noved pie tās dominances šūnu populācijā.

Hep-56.1D šūnu līnijai ir pārsvarā epitēlija morfoloģija, kas atspoguļo tās hepatocītisko izcelsmi. Tas atbilst tās starpfilamentu olbaltumvielu profilam, kas ietver vienkāršos keratīnus K8 un K18, kā arī vimentīnu un keratīnu K19 dažādās pakāpēs. Šo proteīnu klātbūtne apstiprina šūnu līnijas hepatocītisko raksturu un tās klasifikāciju kā hepatomas līniju.

Turpmākā Hep-56.1D analīze, izmantojot DNS pirkstu nospiedumu noteikšanu, neatklāja nekādas būtiskas strukturālas anomālijas, lai gan, palielinoties pasāžu skaitam, tika novērotas dažas izmaiņas konkrētu joslu relatīvajā intensitātē. Tas norāda uz genoma stabilitāti ar zināmu mainīguma pakāpi ilgāku kultivēšanas periodu laikā. P53 mutāciju analīze un starpfilamentu proteīnu ekspresijas modeļi kopā veido Hep-56.1D kā vērtīgu modeli hepatocelulārās karcinomas un p53 mutāciju lomas aknu audzēju veidošanās procesā izpētei.

Organism	Pele
Tissue	Aknas
Disease	Hepatocelulārā karcinoma
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Raksturojums

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Pieaugušo
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Hep-56.1D šūnas | 400204

Citation Hep-56.1D (Cytion kataloga numurs 400204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5769

Biomolekulārie dati

Protein expression Keratīns 8, keratīns 18, vimentīns.

Tumorigenic Jā, C57BL/6J pelēm. Trešajā nedēļā attīstās audzēji, kuru diametrs ir aptuveni 5-6 mm.

Ploidy status Aneuploīds

Mutational profile P53mut, C:G → G:C transversija peles p53 5. eksona 132. kodonā, kas atbilst aminoskābes maiņai no cisteīna uz triptofānu.

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 25 līdz 30 stundas

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1 līdz 2×10^4 šūnas/cm² rutīniskā kultūrā

Hep-56.1D šūnas | 400204**Fluid renewal** Ik pēc 3 līdz 4 dienām**Post-Thaw Recovery** > 90 % šūnu atveseļojas no sasaldēšanas procesa 24-48 stundu laikā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Hep-56.1D šūnas | 400204

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.