

Hep-56.1D-cellen | 400204

Algemene informatie

Description

De hepatoomcellijn Hep-56.1D is afgeleid van een levertumor bij muizen, specifiek van de C57BL/6J muizenstam. Deze cellijn wordt gekarakteriseerd door een opmerkelijke mutatie in het p53-gen, geïdentificeerd op verschillende passages tijdens in vitro vermeerdering. Specifiek vertoont Hep-56.1D een C:G naar G:C transversie bij codon 132 van exon 5, wat resulteert in een aminozuurverandering van cysteïne naar tryptofaan. Deze mutatie werd ontdekt bij passagegetal 17, wat duidt op een selectief groeivoordeel van de mutatie, waardoor deze overheerst in de celpopulatie.

De Hep-56.1D cellijn vertoont een overwegend epitheliale morfologie, wat de hepatocytische oorsprong weerspiegelt. Dit komt overeen met het intermediaire filamenteiwitprofiel, dat de eenvoudige keratines K8 en K18 bevat, evenals vimentine en keratine K19 in verschillende mate. De aanwezigheid van deze eiwitten bevestigt de hepatocytische aard van de cellijn en de classificatie als hepatoomlijn.

Verdere analyse van Hep-56.1D met behulp van DNA-fingerprinting bracht geen belangrijke structurele afwijkingen aan het licht, hoewel er enkele veranderingen in de relatieve intensiteit van specifieke banden werden waargenomen bij toenemend aantal doorgangen. Dit duidt op genomische stabiliteit met een zekere mate van variabiliteit over langere kweekperioden. De p53-mutatieanalyse en expressiepatronen van intermediaire filamenteiwitten maken Hep-56.1D tot een waardevol model voor het bestuderen van hepatocellulair carcinoom en de rol van p53-mutaties in levertumorigenese.

Organism

Muis

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulair carcinoom

Synonyms

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Kenmerken

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Volwassen

Gender

Vrouw

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Hep-56.1D-cellen | 400204

Citation Hep-56.1D (Cytion catalogusnummer 400204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5769

Biomoleculaire gegevens

Protein expression Keratine 8, Keratine 18, Vimentine.

Tumorigenic Ja, in C57BL/6J muizen. In de derde week ontwikkelen zich tumoren met een diameter van ongeveer 5-6 mm.

Ploidy status Aneuploïde

Mutational profile P53mut, C:G → G:C transversie bij codon 132 van muis p53 exon 5, wat overeenkomt met een aminozuurverandering van cysteïne naar tryptofaan.

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 25 tot 30 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen

Hep-56.1D-cellen | 400204

Seeding density 1 tot 2×10^4 cellen/cm² tijdens routinematige kweek

Fluid renewal Elke 3 tot 4 dagen

Post-Thaw Recovery >90% van de cellen herstelde van het vriesproces binnen 24 tot 48 uur

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

Hep-56.1D-cellen | 400204

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

M_18-3: 16
M_4-2: 20.3
M_6-7: 17
M_3-2: 14
M_19-2: 13
M_7-1: 26.2
M_1-1: 16
M_8-1: 16
M_2-1: 15
M_15-3: 22.3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 19
M_17-2: 15
M_12-1: 17
M_5-5: 17
M_X-1: 28
M_13-1: 17
Human D4/D8: -