

Hep-56.1D-celler | 400204

Generell informasjon

Description

Hep-56.1D hepatomcellelinjen er avledet fra en leversvulst fra mus, nærmere bestemt fra musestammen C57BL/6J. Denne cellelinjen kjennetegnes av en bemerkelsesverdig mutasjon i p53-genet, som ble identifisert ved forskjellige passasjer under in vitro-oppformering. Hep-56.1D har en C:G til G:C-transversjon ved kodon 132 i ekson 5, noe som resulterer i en aminosyreendring fra cystein til tryptofan. Denne mutasjonen ble påvist ved passasje nummer 17, noe som tyder på at mutasjonen gir en selektiv vekstfordel og fører til at den dominerer i cellepopulasjonen.

Hep-56.1D-cellelinjen har en overveiende epitelial morfologi, noe som gjenspeiler dens hepatocytiske opprinnelse. Dette stemmer overens med proteinprofilen for intermediære filamenter, som inkluderer de enkle keratinene K8 og K18, samt vimentin og keratin K19 i varierende grad. Tilstedeværelsen av disse proteinene bekrefter cellelinjens hepatocytiske natur og klassifiseringen som en hepatomlinje.

Ytterligere analyse av Hep-56.1D ved hjelp av DNA-fingeravtrykk avslørte ingen større strukturelle abnormiteter, selv om det ble observert noen endringer i den relative intensiteten av spesifikke bånd med økende passasjeantall. Dette indikerer genomisk stabilitet med en viss grad av variabilitet over lengre dyrkingsperioder. Analysen av p53-mutasjoner og ekspresjonsmønstrene for intermediære filamentproteiner gjør Hep-56.1D til en verdifull modell for studier av hepatocellulært karsinom og p53-mutasjoners rolle i tumorgenese i leveren.

Organism

Mus

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulært karsinom

Synonyms

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Kjennetegn

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Voksen

Gender

Kvinne

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Hep-56.1D-celler | 400204

Citation Hep-56.1D (Cytion katalognummer 400204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5769

Biomolekylære data

Protein expression Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.

Tumorigenic Ja, i C57BL/6J-mus. I løpet av den tredje uken utvikles svulster som er ca. 5-6 mm i diameter.

Ploidy status Aneuploid

Mutational profile P53mut, C:G → G:C-transversjon ved kodon 132 i ekson 5 av musens p53, som tilsvarer en aminosyreendring fra cystein til tryptofan.

Håndtering

Culture Medium DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 25 til 30 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales

Hep-56.1D-celler | 400204

Seeding density 1 til 2×10^4 celler/cm² under rutinemessig dyrking

Fluid renewal Hver 3. til 4. dag

Post-Thaw Recovery >90 % av cellene ble gjenvunnet fra fryseprosessen i løpet av 24 til 48 timer

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.

Flask Coating Ingen

Hep-56.1D-celler | 400204

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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: -