Product sheet

Komórki Hep-56.1D | 400204

Informacje ogólne

Description	Linia komórek wątrobiaka Hep-56.1D pochodzi z guza wątroby myszy, w szczególności ze szczepu myszy C57BL/6J. Ta linia komórkowa charakteryzuje się znaczącą mutacją w genie p53, zidentyfikowaną w różnych pasażach podczas rozmnażania in vitro. W szczególności, Hep-56.1D wykazuje konwersję C:G do G:C w kodonie 132 eksonu 5, co skutkuje zmianą aminokwasu z cysteiny na tryptofan. Mutacja ta została wykryta przy przejściu numer 17, co sugeruje selektywną przewagę wzrostu nadaną przez mutację, prowadzącą do jej przewagi w populacji komórek. Linia komórkowa Hep-56.1D wykazuje morfologię głównie nabłonkową, odzwierciedlającą jej hepatocytarne pochodzenie. Jest to zgodne z profilem białek filamentów pośrednich, który obejmuje proste keratyny K8 i K18, a także wimentynę i keratynę K19 w różnym stopniu. Obecność tych białek potwierdza hepatocytarną naturę linii komórkowej i jej klasyfikację jako linii hepatoma. Dalsza analiza Hep-56.1D przy użyciu DNA fingerprinting nie ujawniła żadnych poważnych nieprawidłowości strukturalnych, chociaż zaobserwowano pewne zmiany we względnej intensywności określonych pasm wraz ze wzrostem liczby pasaży. Wskazuje to na stabilność genomu z pewnym stopniem zmienności w dłuższych okresach hodowli. Analiza mutacji p53 i wzorce ekspresji białek filamentów pośrednich razem ustanawiają Hep-56.1D jako cenny model do badania raka wątrobowokomórkowego i roli mutacji p53 w nowotworzeniu wątroby.
Organism	Mysz
Tissue	Wątroba
Disease	Rak wątrobowokomórkowy
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Charakterystyka

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Dorosły
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Komórki Hep-56.1D | 400204

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

Dane biomolekularne

Protein expression	Keratyna 8, Keratyna 18, Wimentyna.
Tumorigenic	Tak, u myszy C57BL/6J. W trzecim tygodniu rozwijają się guzy o średnicy około 5-6 mm.
Ploidy status	Aneuploid
Mutational profile	P53mut, konwersja C:G -+ G:C w kodonie 132 mysiego eksonu 5 p53, co odpowiada zmianie aminokwasu z cysteiny na tryptofan.

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 do 30 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8

Komórki Hep-56.1D | 400204

Seeding density	1 do 2 x 10^4 komórek/cm^2 podczas rutynowej hodowli
Fluid renewal	Co 3 do 4 dni
Post-Thaw Recovery	>90% komórek zostało odzyskanych z procesu zamrażania w ciągu 24 do 48 godzin
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki Hep-56.1D | 400204

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki Hep-56.1D | 400204

Profil STR	**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**: -