

Komórki Hep-56.1B | 400202

Informacje ogólne

Description

Linia komórek wątrobiaka Hep-70.4 pochodzi z guza wątroby myszy, w szczególności ze szczepu myszy C57BL/6J. Ta linia komórkowa wyróżnia się mutacjami w genie p53, które zostały zidentyfikowane w różnych pasażach podczas rozmnażania in vitro. Przy przejściu numer 8 wykryto słaby dodatkowy sygnał w analizie polimorfizmu konformacji pojedynczej nici (SSCP), wskazujący na obecność mutacji p53. Do pasażowania numer 38 zidentyfikowano dwie różne mutacje punktowe p53: konwersję G:C do C:G w kodonie 135 i konwersję C:G do G:C w kodonie 138 eksonu 5. Mutacje te doprowadziły do zmiany aminokwasów odpowiednio z alaniny na prolinę i cysteiny na tryptofan.

Linia komórkowa Hep-70.4 wykazuje fenotyp morfologiczny, który zmienia się znacząco podczas jej rozmnażania. Niektóre podlinie wykazują morfologię nabłonkową, podczas gdy inne wykazują wygląd podobny do fibroblastów. Ta heterogeniczność odzwierciedla złożoną naturę linii komórkowej i jej zdolność adaptacji w różnych warunkach hodowli. Obecność zarówno normalnych, jak i zmutowanych alleli p53 we wczesnych pasażach sugeruje, że mutacje zapewniają selektywną przewagę wzrostu, prowadząc z czasem do przewagi zmutowanych klonów.

Analiza białek włókien pośrednich linii komórkowej Hep-70.4 ujawniła ekspresję prostych keratyn K8 i K18, które są typowe dla prawidłowych komórek wątroby, a także wimentyny i keratyny K19 w różnym stopniu. Te wzorce białkowe potwierdzają hepatocytarne pochodzenie linii komórkowej i jej klasyfikację jako linii hepatoma. Stabilność genomowa Hep-70.4 była dalej oceniana poprzez analizę odcisków palców DNA, która nie ujawniła żadnych poważnych nieprawidłowości strukturalnych, chociaż zaobserwowano zmiany we względnej intensywności niektórych pasm wraz ze wzrostem liczby pasaży.

Organism

Mysz

Tissue

Wątroba

Disease

Rak wątrobowokomórkowy

Synonyms

HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

Charakterystyka

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Dorośli

Gender

Kobieta

Morphology

Podobny do nabłonka

Growth properties

Adherent

Komórki Hep-56.1B | 400202**Dane regulacyjne**

Citation	Hep-56.1B (numer katalogowy Cytion 400202)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5767

Dane biomolekularne

Protein expression	Keratyna 8, Keratyna 18, Wimentyna.
Tumorigenic	Tak, u myszy C57BL/6J
Mutational profile	P53mut (kodon 277 w eksonie 8 => arginina -- treonina).

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
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. Odrzuć 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
Seeding density	1×10^4 komórek/cm ²

Komórki Hep-56.1B | 400202**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.**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 przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś 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 zawieszonych, 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.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

Komórki Hep-56.1B | 400202

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 wykluczone 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.

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: -