

Hep-56.1D-celler | 400204

Allmän information

Description

Hepatocellinjen Hep-56.1D härrör från en levertumör från en mus, specifikt från musstammen C57BL/6J. Denna cellinje kännetecknas av en anmärkningsvärd mutation i p53-genen, som identifierats vid olika passager under in vitro-förökning. Specifikt uppvisar Hep-56.1D en C:G till G:C-transversion vid kodon 132 i exon 5, vilket resulterar i en aminosyraförändring från cystein till tryptofan. Denna mutation upptäcktes vid passage nummer 17, vilket tyder på en selektiv tillväxtfördel som mutationen ger och som leder till att den dominerar i cellpopulationen.

Cellinjen Hep-56.1D uppvisar en övervägande epitelial morfologi, vilket återspeglar dess hepatocytiska ursprung. Detta överensstämmer med dess proteinprofil för intermediära filament, som inkluderar de enkla keratinerna K8 och K18, samt vimentin och keratin K19 i varierande grad. Förekomsten av dessa proteiner bekräftar cellinjens hepatocytiska natur och dess klassificering som en hepatocellinje.

Ytterligare analys av Hep-56.1D med hjälp av DNA-fingeravtryck avslöjade inga större strukturella avvikelser, även om vissa förändringar i de relativa intensiteterna för specifika band observerades med ökande passagenummer. Detta tyder på genomisk stabilitet med en viss grad av variabilitet under längre odlingsperioder. Analysen av p53-mutationer och uttrycksmönstren för intermediära filamentproteiner gör tillsammans Hep-56.1D till en värdefull modell för studier av hepatocellulärt karcinom och p53-mutationernas roll i tumörutvecklingen i levern.

Organism

Mus

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulärt karcinom

Synonyms

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Egenskaper

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Vuxen

Gender

Kvinna

Morphology

Epitelliknande

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter

Hep-56.1D-celler | 400204**Citation** Hep-56.1D (Cytion katalognummer 400204)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5769**Biomolekylära data****Protein expression** Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.**Tumorigenic** Ja, på C57BL/6J-möss. Under den tredje veckan utvecklas tumörer som är ca 5-6 mm i diameter.**Ploidy status** Aneuploid**Mutational profile** P53mut, C:G → G:C-transversion vid kodon 132 i musens p53 exon 5, vilket motsvarar en aminosyraförändring från cystein till tryptofan.**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 25 till 30 timmar**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:4 till 1:8 rekommenderas

Hep-56.1D-celler | 400204

Seeding density 1 till 2×10^4 celler/cm² under rutinodling

Fluid renewal Var 3:e till 4:e dag

Post-Thaw Recovery >90% av cellerna återställs från frysningsprocessen inom 24 till 48 timmar

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödesbänk och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturbottor; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-botten för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befuktad atmosfär.

Hep-56.1D-celler | 400204

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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: -