Product sheet

Tế bào Hep-56.1D | 400204

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào ung thư gan Hep-56.1D được phân lập từ một khối u gan của chuột, cụ thể là từ dòng chuột C57BL/6J. Dòng tế bào này có đặc điểm là mang một đột biến đáng chú ý trong gen p53, được phát hiện ở các thế hệ khác nhau trong quá trình nuôi cấy in vitro. Cụ thể, Hep-56.1D có sự chuyển đổi C:G thành G:C tại codon 132 của exon 5, dẫn đến sự thay đổi axit amin từ cysteine sang tryptophan. Đột biến này được phát hiện ở lần truyền thứ 17, cho thấy lợi thế tăng trưởng chọn lọc do đột biến mang lại, dẫn đến sự chiếm ưu thế của nó trong quần thể tế bào. Dòng tế bào Hep-56.1D có hình thái chủ yếu là biểu mô, phản ánh nguồn gốc tế bào gan của nó. Điều này phù hợp với hồ sơ protein sợi trung gian của nó, bao gồm các keratin đơn giản K8 và K18, cũng như vimentin và keratin K19 ở các mức độ khác nhau. Sự hiện diện của các protein này xác nhận bản chất tế bào gan của dòng tế bào và phân loại nó là dòng tế bào ung thư gan. Phân tích thêm về Hep-56.1D bằng phương pháp in dấu vân tay DNA không phát hiện ra bất kỳ bất thường cấu trúc lớn nào, mặc dù một số thay đổi về cường độ tương đối của các dải cụ thể được quan sát thấy khi số lần truyền tăng lên. Điều này cho thấy tính ổn định của bộ gen với một mức độ biến đổi nhất định trong thời gian nuôi cấy kéo dài. Phân tích đột biến p53 và mô hình biểu hiện protein sợi trung gian cùng nhau xác lập Hep-56.1D là một mô hình quý giá để nghiên cứu ung thư tế bào gan và vai trò của đột biến p53 trong quá trình hình thành khối u gan.
Organism	Chuột
Tissue	Gan
Disease	Ung thư tế bào gan
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Đặc điểm

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Người lớn
Gender	Nữ
Morphology	Tương tự biểu mô
Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Tế bào Hep-56.1D | 400204

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

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.
Tumorigenic	Đúng vậy, ở chuột C57BL/6J. Trong tuần thứ ba, các khối u sẽ phát triển với đường kính khoảng 5-6 mm.
Ploidy status	Aneuploid
Mutational profile	P53mut, C:G -+ G:C chuyển đổi tại codon 132 của exon 5 gen p53 ở chuột, tương ứng với sự thay đổi axit amin từ cysteine sang tryptophan.

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L $NaHCO_3$, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 đến 30 giờ
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Seeding density	1 đến 2 × 10^4 tế bào/cm^2 trong quá trình nuôi cấy thông thường.

Tế bào Hep-56.1D | 400204

Fluid renewal	Mỗi 3 đến 4 ngày
Post-Thaw Recovery	>90% các tế bào được phục hồi sau quá trình đông lạnh trong vòng 24 đến 48 giờ
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.
Thawing and Culturing Cells	1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển. 2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức. 3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ. 4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở. 5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ. 6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại. 7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả. 8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% CO_2, môi trường ẩm.
Flask Coating	Không có

Tế bào Hep-56.1D | 400204

Freezing Procedure	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.