

## Клетки Hep-56.1C | 400203

## Обща информация

## Description

Хепатомната клетъчна линия Hep-56.1c е получена от тумор на черния дроб на мишка, по-специално от щама C57BL/6J. Тази клетъчна линия се характеризира със забележителна мутация в гена p53, установена на различни етапи по време на *in vitro* размножаването. По-конкретно, Hep-56.1c показва трансверсия от C:G до G:C в кодон 132 на екзон 5, което води до промяна на аминокиселината от цистеин в триптофан. Тази мутация е открита при пасаж номер 17, което предполага селективно предимство на растежа, предоставено от мутацията, водещо до нейното преобладаване в клетъчната популация.

Клетъчната линия Hep-56.1c показва предимно епителна морфология, което отразява нейния хепатоцитен произход. Това съответства на нейния профил на протеини от междинни нишки, който включва прости кератини K8 и K18, както и виментин и кератин K19 в различна степен. Наличието на тези протеини потвърждава хепатоцитната природа на клетъчната линия и класифицирането ѝ като хепатомна линия.

По-нататъшният анализ на Hep-56.1c с помощта на ДНК пръстови отпечатъци не разкрива никакви големи структурни аномалии, въпреки че се наблюдават някои промени в относителната интензивност на специфични ленти с увеличаване на броя на пасажите. Това показва геномна стабилност с известна степен на променливост през продължителни периоди на култивиране. Анализът на мутациите на p53 и моделите на експресия на протеини от междинни нишки заедно утвърждават Hep-56.1c като ценен модел за изучаване на хепатоцелуларния карцином и ролята на мутациите на p53 в туморогенезата на черния дроб.

<b>Organism</b>	Мишка
<b>Tissue</b>	Черен дроб
<b>Disease</b>	Хепатоцелуларен карцином
<b>Synonyms</b>	HEP-56.1C, 56.1C, 56.1c

## Характеристики

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Възрастни
<b>Gender</b>	Жена
<b>Morphology</b>	Подобни на епител
<b>Growth properties</b>	Придържащи се

## Клетки Hep-56.1C | 400203

## Регулаторни данни

<b>Citation</b>	Hep-56.1C (каталожен номер 400203 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5768

## Биомолекулярни данни

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ клетки/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	На всеки 3 до 5 дни
<b>Post-Thaw Recovery</b>	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност $5 \times 10^4$ клетки/cm <sup>2</sup> и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
<b>Freeze medium</b>	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки Нер-56.1C | 400203

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки Hep-56.1C | 400203

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.