

Κύτταρα Hep-56.1C | 400203

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά ηπατώματος Hep-56.1c προέρχεται από όγκο του ήπατος ποντικού, συγκεκριμένα από το στέλεχος ποντικού C57BL/6J. Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από μια αξιοσημείωτη μετάλλαξη στο γονίδιο p53, η οποία εντοπίστηκε σε διάφορα περάσματα κατά τον *in vitro* πολλαπλασιασμό. Συγκεκριμένα, το Hep-56.1c παρουσιάζει μεταστροφή από C:G σε G:C στο κωδικόνιο 132 του εξονίου 5, με αποτέλεσμα την αλλαγή αμινοξέος από κυστεΐνη σε τρυπτοφάνη. Η μετάλλαξη αυτή ανιχνεύθηκε στον αριθμό διέλευσης 17, γεγονός που υποδηλώνει ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα ανάπτυξης που παρέχει η μετάλλαξη, οδηγώντας στην επικράτησή της στον κυτταρικό πληθυσμό.

Η κυτταρική σειρά Hep-56.1c εμφανίζει κυρίως επιθηλιακή μορφολογία, γεγονός που αντανακλά την ηπατοκυτταρική της προέλευση. Αυτό συνάδει με το πρωτεϊνικό προφίλ των ενδιάμεσων νηματίων της, το οποίο περιλαμβάνει τις απλές κερατίνες K8 και K18, καθώς και βιμεντίνη και κερατίνη K19 σε διαφορετικό βαθμό. Η παρουσία αυτών των πρωτεϊνών επιβεβαιώνει την ηπατοκυτταρική φύση της κυτταρικής σειράς και την ταξινόμησή της ως ηπατώματος.

Η περαιτέρω ανάλυση της Hep-56.1c με τη χρήση δακτυλικών αποτυπωμάτων DNA δεν αποκάλυψε σημαντικές δομικές ανωμαλίες, αν και παρατηρήθηκαν ορισμένες αλλαγές στις σχετικές εντάσεις συγκεκριμένων ζωνών με την αύξηση του αριθμού διέλευσης. Αυτό υποδηλώνει γονιδιωματική σταθερότητα με κάποιο βαθμό μεταβλητότητας για παρατεταμένες περιόδους καλλιέργειας. Η ανάλυση των μεταλλάξεων p53 και τα πρότυπα έκφρασης των πρωτεϊνών ενδιάμεσου νηματίου μαζί καθιερώνουν την Hep-56.1c ως ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και του ρόλου των μεταλλάξεων p53 στην καρκινογένεση του ήπατος.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Ήπαρ

Disease

Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

Synonyms

HEP-56.1C, 56.1C, 56.1c

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Ενηλίκων

Gender

Γυναίκα

Morphology

Επιθηλιοειδής

Growth properties

Προσκολλημένο

Κύτταρα Hep-56.1C | 400203

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Hep-56.1C (αριθμός καταλόγου Cytion 400203)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5768

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10 ⁴ κύτταρα/cm ²
Fluid renewal	Κάθε 3 έως 5 ημέρες
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10 ⁴ κύτταρα/cm ² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα Hep-56.1C | 400203**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα Hep-56.1C | 400203

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.