

Cellules Hep-56.1D | 400204

Informations générales

Description

La lignée cellulaire d'hépatome Hep-56.1D est dérivée d'une tumeur hépatique de souris, plus précisément de la souche de souris C57BL/6J. Cette lignée cellulaire est caractérisée par une mutation notable du gène p53, identifiée à différents passages au cours de la propagation in vitro. Plus précisément, Hep-56.1D présente une transversion C:G à G:C au codon 132 de l'exon 5, entraînant un changement d'acide aminé de la cystéine au tryptophane. Cette mutation a été détectée au numéro de passage 17, ce qui suggère un avantage sélectif de croissance conféré par la mutation, conduisant à sa prédominance dans la population cellulaire.

La lignée cellulaire Hep-56.1D présente une morphologie principalement épithéliale, reflétant son origine hépatocytaire. Ceci est cohérent avec son profil de protéines de filaments intermédiaires, qui comprend les kératines simples K8 et K18, ainsi que la vimentine et la kératine K19 à des degrés divers. La présence de ces protéines confirme la nature hépatocytaire de la lignée cellulaire et sa classification comme lignée d'hépatome.

Une analyse plus poussée de Hep-56.1D à l'aide de l'empreinte ADN n'a pas révélé d'anomalies structurelles majeures, bien que certains changements dans l'intensité relative de bandes spécifiques aient été observés avec l'augmentation du nombre de passages. Cela indique une stabilité génomique avec un certain degré de variabilité sur des périodes de culture prolongées. L'analyse des mutations de p53 et les profils d'expression des protéines du filament intermédiaire font de Hep-56.1D un modèle précieux pour l'étude du carcinome hépatocellulaire et du rôle des mutations de p53 dans la tumorigenèse hépatique.

Organism	Souris
Tissue	Foie
Disease	Carcinome hépatocellulaire
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Caractéristiques

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Adulte
Gender	Femme
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Cellules Hep-56.1D | 400204

Citation Hep-56.1D (numéro de catalogue Cytion 400204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5769

Données biomoléculaires

Protein expression Kératine 8, Kératine 18, Vimentine.

Tumorigenic Oui, chez les souris C57BL/6J. Au cours de la troisième semaine, des tumeurs d'environ 5-6 mm de diamètre se développent.

Ploidy status Aneuploïde

Mutational profile P53mut, transversion C:G → G:C au codon 132 de l'exon 5 de p53 de souris, qui correspond à un changement d'acide aminé de la cystéine au tryptophane.

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 25 à 30 heures

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:4 à 1:8 est recommandé

Cellules Hep-56.1D | 400204

Seeding density 1 à 2×10^4 cellules/cm² pendant la culture de routine

Fluid renewal Tous les 3 ou 4 jours

Post-Thaw Recovery >90% des cellules récupérées par le processus de congélation dans les 24 à 48 heures

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules Hep-56.1D | 400204

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating Aucun

Freezing Procedure Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Cellules Hep-56.1D | 400204

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: -