

**Cellule Hep-56.1D | 400204****Informazioni generali****Description**

La linea cellulare di epatoma Hep-56.1D è derivata da un tumore epatico di topo, in particolare dal ceppo di topo C57BL/6J. Questa linea cellulare è caratterizzata da una notevole mutazione nel gene p53, identificata in diversi passaggi durante la propagazione in vitro. In particolare, Hep-56.1D presenta una trasversione da C:G a G:C al codone 132 dell'esone 5, con conseguente cambio di aminoacido da cisteina a triptofano. Questa mutazione è stata rilevata al passaggio numero 17, suggerendo un vantaggio selettivo di crescita conferito dalla mutazione, che ha portato alla sua predominanza nella popolazione cellulare.

La linea cellulare Hep-56.1D presenta una morfologia prevalentemente epiteliale, che riflette la sua origine epatocitaria. Ciò è coerente con il profilo proteico del filamento intermedio, che comprende le cheratine semplici K8 e K18, nonché la vimentina e la cheratina K19 in misura variabile. La presenza di queste proteine conferma la natura epatocitaria della linea cellulare e la sua classificazione come linea di epatoma.

Un'ulteriore analisi di Hep-56.1D mediante DNA fingerprinting non ha rivelato alcuna anomalia strutturale di rilievo, sebbene siano stati osservati alcuni cambiamenti nell'intensità relativa di bande specifiche con l'aumento del numero di passaggi. Ciò indica una stabilità genomica con un certo grado di variabilità in periodi di coltura prolungati. L'analisi delle mutazioni di p53 e i modelli di espressione delle proteine del filamento intermedio definiscono Hep-56.1D come un modello prezioso per lo studio del carcinoma epatocellulare e del ruolo delle mutazioni di p53 nella tumorigenesi epatica.

**Organism**

Mouse

**Tissue**

Fegato

**Disease**

Carcinoma epatocellulare

**Synonyms**

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

**Caratteristiche****Breed/Subspecies**

C57BL/6J

**Age**

Adulti

**Gender**

Donna

**Morphology**

Simile all'epitelio

**Growth properties**

Aderente

**Dati normativi**

**Cellule Hep-56.1D | 400204****Citation** Hep-56.1D (numero di catalogo Cytion 400204)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5769**Dati biomolecolari****Protein expression** Cheratina 8, cheratina 18, vimentina.**Tumorigenic** Sì, nei topi C57BL/6J. Alla terza settimana si sviluppano tumori di circa 5-6 mm di diametro.**Ploidy status** Aneuploide**Mutational profile** P53mut, transversione C:G → G:C al codone 132 dell'esone 5 di p53 di topo, che corrisponde a un cambio di aminoacido da cisteina a triptofano.**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** da 25 a 30 ore**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si consiglia un rapporto da 1:4 a 1:8

## Cellule Hep-56.1D | 400204

**Seeding density** Da 1 a  $2 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup> durante la coltura di routine

**Fluid renewal** Ogni 3 o 4 giorni

**Post-Thaw Recovery** >90% delle cellule recuperate dal processo di congelamento entro 24-48 ore

**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificata.

## Cellule Hep-56.1D | 400204

### Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

**Cellule Hep-56.1D | 400204**

---

**Profilo 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: -