

Cellule Hep-56.1B | 400202

Informazioni generali

Description

La linea cellulare di epatoma Hep-70.4 deriva da un tumore epatico di topo, in particolare dal ceppo di topo C57BL/6J. Questa linea cellulare si distingue per le mutazioni nel gene p53, identificate a diversi passaggi durante la propagazione in vitro. Al passaggio numero 8, è stato rilevato un debole segnale aggiuntivo nell'analisi del polimorfismo di conformazione a singolo filamento (SSCP), che indica la presenza di una mutazione p53. Al passaggio numero 38, sono state identificate due distinte mutazioni puntiformi di p53: una trasversione da G:C a C:G al codone 135 e una trasversione da C:G a G:C al codone 138 dell'esone 5. Queste mutazioni hanno comportato la formazione di aminoacidi in una delle due parti. Queste mutazioni hanno portato a cambiamenti aminoacidici, rispettivamente da alanina a prolina e da cisteina a triptofano.

La linea cellulare Hep-70.4 mostra un fenotipo morfologico che varia significativamente durante la sua propagazione. Alcune sottolinee presentano una morfologia epiteliale, mentre altre mostrano un aspetto simile a quello dei fibroblasti. Questa eterogeneità riflette la natura complessa della linea cellulare e la sua adattabilità a diverse condizioni di coltura. La presenza di alleli p53 sia normali che mutati nei primi passaggi suggerisce che le mutazioni conferiscono un vantaggio selettivo alla crescita, portando alla predominanza di cloni mutati nel tempo.

L'analisi delle proteine dei filamenti intermedi della linea cellulare Hep-70.4 ha rivelato l'espressione delle cheratine semplici K8 e K18, tipiche delle cellule epatiche normali, nonché della vimentina e della cheratina K19 in misura variabile. Questi pattern proteici confermano l'origine epatocitaria della linea cellulare e la sua classificazione come linea di epatoma. La stabilità genomica di Hep-70.4 è stata ulteriormente valutata attraverso l'analisi del DNA fingerprint, che non ha rivelato alcuna anomalia strutturale di rilievo, sebbene siano state osservate variazioni nell'intensità relativa di alcune bande con l'aumento del numero di passaggi.

Organism

Mouse

Tissue

Fegato

Disease

Carcinoma epatocellulare

Synonyms

HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

Caratteristiche

Breed/Subspecies

C57BL/6J

Age

Adulti

Gender

Donna

Morphology

Simile all'epitelio

Cellule Hep-56.1B | 400202

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	Hep-56.1B (numero di catalogo Cytion 400202)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5767
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

Protein expression	Cheratina 8, cheratina 18, vimentina.
---------------------------	---------------------------------------

Tumorigenic	Sì, in topi C57BL/6J
--------------------	----------------------

Mutational profile	P53mut (codone 277 nell'esone 8 => Arginina -- Treonina).
---------------------------	---

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutamina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , 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
-----------------------------	----------

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-56.1B | 400202

Seeding density 1 x 10⁴ cellule/cm²

Fluid renewal Ogni 3-5 giorni

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5 x 10⁴ cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, 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%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Cellule Hep-56.1B | 400202

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-56.1B | 400202

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: -