

Celule Hep-56.1D | 400204**Informații generale****Description**

Linia celulară de hepatom Hep-56.1D este derivată dintr-o tumoră hepatică de șoarece, în special din tulpina de șoarece C57BL/6J. Această linie celulară este caracterizată de o mutație notabilă în gena p53, identificată la diferite pasaje în timpul propagării in vitro. În mod specific, Hep-56.1D prezintă o transversiune de la C:G la G:C la codonul 132 al exonului 5, ceea ce duce la o schimbare a aminoacizilor de la cisteină la triptofan. Această mutație a fost detectată la pasajul numărul 17, ceea ce sugerează un avantaj de creștere selectivă conferit de mutație, conducând la predominarea sa în populația celulară.

Linia celulară Hep-56.1D prezintă o morfologie predominant epitelială, reflectând originea sa hepatocitară. Acest lucru este în concordanță cu profilul său proteic al filamentelor intermediare, care include keratinele simple K8 și K18, precum și vimentina și keratina K19 în diferite grade. Prezența acestor proteine confirmă natura hepatocitară a liniei celulare și clasificarea acesteia ca linie de hepatom.

Analiza ulterioară a Hep-56.1D cu ajutorul amprentei ADN nu a evidențiat anomalii structurale majore, deși s-au observat unele modificări ale intensităților relative ale benzilor specifice odată cu creșterea numărului de treceri. Aceasta indică o stabilitate genomică cu un anumit grad de variabilitate pe perioade de cultură extinse. Analiza mutațiilor p53 și modelele de expresie a proteinelor filamentului intermediar stabilesc Hep-56.1D ca un model valoros pentru studiul carcinomului hepatocelular și al rolului mutațiilor p53 în tumorigeneza hepatică.

Organism Șoarece**Tissue** Ficat**Disease** Carcinom hepatocelular**Synonyms** HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d**Caracteristici****Breed/Subspecies** C57BL/6J**Age** Adult**Gender** Femei**Morphology** De tip epitelial**Growth properties** Aderent**Date de reglementare**

Celule Hep-56.1D | 400204

Citation Hep-56.1D (număr de catalog Cytion 400204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5769

Date biomoleculare

Protein expression Keratina 8, Keratina 18, Vimentina.

Tumorigenic Da, la șoarecii C57BL/6J. În a treia săptămână, se vor dezvolta tumori care au un diametru de aproximativ 5-6 mm.

Ploidy status Aneuploid

Mutational profile P53mut, transversiune C:G → G:C la codonul 132 al exonului 5 al p53 la șoarece, care corespunde unei schimbări de aminoacizi de la cisteină la triptofan.

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 25 până la 30 de ore

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Seeding density 1 până la 2×10^4 celule/cm² în timpul culturii de rutină

Celule Hep-56.1D | 400204**Fluid renewal** La fiecare 3 sau 4 zile**Post-Thaw Recovery** >90% din celule au fost recuperate din procesul de congelare în 24 până la 48 de ore**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.**Flask Coating**Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu collagen**.

Celule Hep-56.1D | 400204

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.