

Celule Hep-56.1B | 400202**Informații generale****Description**

Linia celulară de hepatom Hep-70.4 este derivată dintr-o tumoră hepatică de șoarece, în special din tulpina de șoarece C57BL/6J. Această linie celulară se remarcă prin mutațiile sale în gena p53, care au fost identificate la diferite pasaje în timpul propagării in vitro. La pasajul numărul 8, a fost detectat un semnal suplimentar slab în analiza polimorfismului de conformație monocatenară (SSCP), indicând prezența unei mutații p53. Până la trecerea numărul 38, au fost identificate două mutații punctiforme distincte ale p53: o transversiune G:C la C:G la codonul 135 și o transversiune C:G la G:C la codonul 138 al exonului 5. Aceste mutații au dus la schimbarea aminoacizilor din alanină în prolină și, respectiv, din cisteină în triptofan.

Linia celulară Hep-70.4 prezintă un fenotip morfologic care variază semnificativ în timpul propagării sale. Unele sublinii prezintă o morfologie epitelială, în timp ce altele prezintă un aspect fibroblastic. Această eterogenitate reflectă natura complexă a liniei celulare și adaptabilitatea sa în diferite condiții de cultură. Prezența atât a alelelor p53 normale, cât și a celor mutante în primele pasaje sugerează că mutațiile conferă un avantaj selectiv de creștere, conducând la predominarea clonelor mutante în timp.

Analiza proteinelor filamentelor intermediare ale liniei celulare Hep-70.4 a evidențiat expresia keratinelor simple K8 și K18, care sunt tipice celulelor hepatice normale, precum și a vimentinei și a keratinei K19 în diferite grade. Aceste modele proteice confirmă originea hepatocitară a liniei celulare și clasificarea acesteia ca linie de hepatom. Stabilitatea genomică a Hep-70.4 a fost evaluată în continuare prin analiza amprentei ADN, care nu a evidențiat anomalii structurale majore, deși s-au observat modificări ale intensității relative a anumitor benzi odată cu creșterea numărului de treceri.

Organism	Șoarece
Tissue	Ficat
Disease	Carcinom hepatocelular
Synonyms	HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

Caracteristici

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Adult
Gender	Femei
Morphology	De tip epitelial
Growth properties	Aderent

Celule Hep-56.1B | 400202**Date de reglementare**

Citation	Hep-56.1B (număr de catalog Cytion 400202)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5767

Date biomoleculare

Protein expression	Keratina 8, Keratina 18, Vimentina.
Tumorigenic	Da, la șoarecii C57BL/6J
Mutational profile	P53mut (codon 277 în exonul 8 => Arginin -- Threonin).

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
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 x 10 ⁴ celule/cm ²
Fluid renewal	La fiecare 3 până la 5 zile

Celule Hep-56.1B | 400202**Post-Thaw Recovery**

După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 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

Niciuna

Celule Hep-56.1B | 400202

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.