

Клітини гепатиту 56.1C | 400203

Загальна інформація

Description

Клітинну лінію гепатоми Hep-56.1c отримано з пухлини печінки миші, а саме зі штаму миші C57BL/6J. Ця клітинна лінія характеризується помітною мутацією в гені p53, яка ідентифікується на різних пасажах під час розмноження *in vitro*. Зокрема, Hep-56.1c демонструє трансверсію C:G на G:C в кодоні 132 екзону 5, що призводить до заміни амінокислоти з цистеїну на триптофан. Ця мутація була виявлена на пасажі № 17, що свідчить про селективну перевагу росту, яку надає мутація, що призводить до її переважання в популяції клітин.

Клітинна лінія Hep-56.1c має переважно епітеліальну морфологію, що відображає її гепатоцитарне походження. Це узгоджується з профілем білків проміжних філаментів, який включає прості кератини K8 і K18, а також віментин і кератин K19 в різному ступені. Наявність цих білків підтверджує гепатоцитарну природу клітинної лінії та її класифікацію як лінії гепатоми.

Подальший аналіз Hep-56.1c за допомогою методу ДНК-фінгерпринтингу не виявив жодних серйозних структурних порушень, хоча зі збільшенням кількості пасажів спостерігалися деякі зміни відносної інтенсивності специфічних смуг. Це свідчить про стабільність геному з певним ступенем мінливості протягом тривалого періоду культивування. Аналіз мутацій p53 та патернів експресії білків проміжних філаментів разом роблять Hep-56.1c цінною моделлю для вивчення гепатоцелюлярної карциноми та ролі мутацій p53 в пухлиногенезі печінки.

Organism	Миша
Tissue	Печінка
Disease	Гепатоцелюлярна карцинома
Synonyms	HEP-56.1C, 56.1C, 56.1c

Характеристики

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Дорослий
Gender	Жінка
Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Клітини гепатиту 56.1C | 400203

Citation	Hep-56.1C (номер за каталогом Cytion 400203)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5768

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мм L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мм піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1×10^4 клітин/см ²
Fluid renewal	Кожні 3-5 днів
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см ² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини гепатиту 56.1C | 400203**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини гепатиту 56.1C | 400203

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.