Product sheet

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	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, 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/см2
Fluid renewal	Кожні 3-5 днів
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^{4} клітин/см2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування 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, зануривши 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 x 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. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 перевіреній 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.
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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.