Product sheet

Клітини Hep-55.1C | 400201

Загальна інформація

Description	Клітинну лінію гепатоми Hep-55.1c отримано з пухлини печінки миші, а саме зі штаму миші C57BL/6J. Ця клітинна лінія характеризується гепатоцитарним походженням, підтвердженим за допомогою аналізу білка проміжної нитки. Hep-55.1c експресує прості кератини K8 і K18, які є типовими для нормальних клітин печінки, а також віментин і кератин K19 в різному ступені. Ці білкові патерни підтверджують гепатоцитарну природу клітинної лінії та її класифікацію як лінії гепатоми. Клітинна лінія Hep-55.1c має переважно епітеліальну морфологію, що відображає її походження з гепатоцитів. Цей морфологічний фенотип узгоджується з профілем експресії білків. Аналіз ДНК-відбитків Hep-55.1c не виявив жодних серйозних структурних порушень, що свідчить про певну стабільність геному. Однак спостерігалися деякі зміни у відносній інтенсивності специфічних смуг зі збільшенням кількості пасажів, що свідчить про незначну геномну мінливість протягом тривалих періодів культивування. Незважаючи на відсутність виявлених мутацій p53 в первинних пухлинах печінки мишей, в деяких лініях гепатоми були виявлені аберації під час розмноження in vitro. Клітинну лінію Hep-55.1c було проаналізовано на наявність мутацій в генах p53 і c-Ha-ras. Відсутність виявлених мутацій в гені p53 в цій лінії на ранніх стадіях пасажування свідчить про стабільний генетичний фон. Ця клітинна лінія слугує цінною моделлю для вивчення гепатоцелюлярної карциноми, забезпечуючи розуміння клітинних і молекулярних механізмів, що лежать в основі пухлиноутворення в печінці.
Organism	Миша
Tissue	Печінка
Disease	Гепатоцелюлярна карцинома
Synonyms	HEP-55.1C, 55.1C

Характеристики

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

Product sheet

Клітини Hep-55.1C | 400201

Нормативні дані

Citation	Hep-55.1C (номер за каталогом Cytion 400201)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5766

Біомолекулярні дані

Protein expression	Кератин 8, Кератин 18, Віментин.
Tumorigenic	Так, у мишей C57BL/6J
Mutational profile	P53 мас

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.
Fluid renewal	Кожні 3-5 днів
Post-Thaw Recovery	Почніть культивування з кріопробірки при щільності клітин від 3 до 4 x 10^4 клітин/^{см2}. Клітини відновляться протягом 24–48 годин.

Клітини Hep-55.1C | 400201

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.

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	Ні

Клітини Hep-55.1C | 400201

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.
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.