

Клітини Hep-56.1D | 400204

Загальна інформація

Description

Клітинну лінію гепатоми Hep-56.1D 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-56.1D 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-56.1D має переважно епітеліальну морфологію, що свідчить про 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-56.1D за допомогою ДНК-дактилоскопії не виявив жодних серйозних структурних порушень, хоча зі збільшенням кількості пасажів спостерігалися деякі зміни у відносній 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-56.1D цінною моделлю для вивчення гепатоцелюлярної карциноми та ролі мутацій p53 в пухлиногенезі печінки.

Organism	Миша
Tissue	Печінка
Disease	Гепатоцелюлярна карцинома
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Характеристики

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

Нормативні дані

Клітини Hep-56.1D | 400204

Citation Hep-56.1D (номер за каталогом Cytion 400204)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5769

Біомолекулярні дані

Protein expression Кератин 8, Кератин 18, Віментин.

Tumorigenic Так, у мишей лінії C57BL/6J. На третьому тижні розвиваються пухлини діаметром приблизно 5-6 мм.

Ploidy status Анеуплоїдний

Mutational profile P53mut, C:G → G:C-трансверсія в кодоні 132 екзону 5 гена p53 миші, що відповідає заміні амінокислоти з цистеїну на триптофан.

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

Doubling time від 25 до 30 годин

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 $1-2 \times 10^4$ клітин/см² під час рутинного культивування

Клітини Hep-56.1D | 400204**Fluid renewal** Кожні 3-4 дні**Post-Thaw Recovery** >90% клітин відновлюються після заморожування протягом 24-48 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 криоіндукованого 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 криовіал 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 криовіал 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.

Клітини Hep-56.1D | 400204

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 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.

Shipping Conditions

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.

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 мікоплазموю 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.