

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 DMEM, 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 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, волога атмосфера.

Клітини Hep-56.1D | 400204

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.

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 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.