

Cellules Hep-56.1D | 400204

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire d'hépatome Hep-56.1D est issue d'une tumeur hépatique de souris, plus précisément de la souche C57BL/6J. Cette lignée cellulaire se caractérise par une mutation notable du gène p53, identifiée à différents passages au cours de la multiplication in vitro. Plus précisément, la lignée Hep-56.1D présente une transversion C:G en G:C au codon 132 de l'exon 5, ce qui entraîne un remplacement de la cystéine par le tryptophane. Cette mutation a été détectée au 17e passage, ce qui suggère un avantage de croissance sélectif conféré par la mutation, menant à sa prédominance au sein de la population cellulaire.

La lignée cellulaire Hep-56.1D présente une morphologie principalement épithéliale, reflétant son origine hépatocytaire. Ceci concorde avec son profil de protéines des filaments intermédiaires, qui comprend les kératines simples K8 et K18, ainsi que la vimentine et la kératine K19 à des degrés divers. La présence de ces protéines confirme la nature hépatocytaire de la lignée cellulaire et sa classification comme lignée d'hépatome.

Une analyse plus approfondie de la lignée Hep-56.1D par empreinte génétique n'a révélé aucune anomalie structurelle majeure, bien que certains changements dans les intensités relatives de bandes spécifiques aient été observés à mesure que le nombre de passages augmentait. Cela indique une stabilité génomique accompagnée d'un certain degré de variabilité sur des périodes de culture prolongées. L'analyse des mutations du gène p53 et les profils d'expression des protéines des filaments intermédiaires établissent ensemble que la lignée Hep-56.1D constitue un modèle précieux pour l'étude du carcinome hépatocellulaire et du rôle des mutations du gène p53 dans la tumorigenèse hépatique.

Organism	Souris
Tissue	Foie
Disease	Carcinome hépatocellulaire
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Caractéristiques

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Adulte
Gender	Femme
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Adeptes

Cellules Hep-56.1D | 400204

Données réglementaires

Citation	Hep-56.1D (numéro de catalogue Cytion 400204)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5769

Données biomoléculaires

Protein expression	Kératine 8, kératine 18, vimentine.
Tumorigenic	Oui, chez les souris C57BL/6J. Au cours de la troisième semaine, des tumeurs d'environ 5 à 6 mm de diamètre apparaîtront.
Ploidy status	Aneuploïde
Mutational profile	P53mut, transversion C:G → G:C au codon 132 de l'exon 5 du gène p53 de la souris, ce qui correspond à un remplacement de la cystéine par le tryptophane.

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	de 25 à 30 heures
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules Hep-56.1D | 400204

Seeding density de 1 à 2×10^4 cellules/cm² lors d'une culture de routine

Fluid renewal Tous les 3 ou 4 jours

Post-Thaw Recovery >90 % des cellules ont été récupérées après la congélation, dans un délai de 24 à 48 heures

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules Hep-56.1D | 400204

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.