

Cellules Hep-56.1B | 400102

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire d'hépatome Hep-70.4 est issue d'une tumeur hépatique de souris, plus précisément de la souche C57BL/6J. Cette lignée cellulaire se distingue par ses mutations du gène p53, qui ont été identifiées à différents passages au cours de sa multiplication in vitro. Au 8e passage, un signal supplémentaire faible a été détecté lors de l'analyse du polymorphisme de conformation des brins simples (SSCP), indiquant la présence d'une mutation du gène p53. Au 38e passage, deux mutations ponctuelles distinctes du gène p53 ont été identifiées : une transversion G:C en C:G au codon 135 et une transversion C:G en G:C au codon 138 de l'exon 5. Ces mutations ont entraîné des changements d'acides aminés, respectivement de l'alanine en proline et de la cystéine en tryptophane.

La lignée cellulaire Hep-70.4 présente un phénotype morphologique qui varie considérablement au cours de sa propagation. Certaines sous-lignées présentent une morphologie épithéliale, tandis que d'autres ont un aspect de type fibroblaste. Cette hétérogénéité reflète la nature complexe de la lignée cellulaire et sa capacité d'adaptation à différentes conditions de culture. La présence d'allèles p53 à la fois normaux et mutés dans les premiers passages suggère que les mutations confèrent un avantage de croissance sélectif, ce qui conduit à la prédominance des clones mutés au fil du temps.

L'analyse des protéines des filaments intermédiaires de la lignée cellulaire Hep-70.4 a révélé l'expression des kératines simples K8 et K18, caractéristiques des cellules hépatiques normales, ainsi que de la vimentine et de la kératine K19 à des degrés variables. Ces profils protéiques confirment l'origine hépatocytaire de la lignée cellulaire et sa classification comme lignée d'hépatome. La stabilité génomique de Hep-70.4 a été évaluée plus en détail par une analyse d'empreinte génomique, qui n'a révélé aucune anomalie structurelle majeure, bien que des changements dans les intensités relatives de certaines bandes aient été observés à mesure que le nombre de passages augmentait.

Organism Souris

Tissue Foie

Disease Carcinome hépatocellulaire

Synonyms HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

Caractéristiques

Breed/Subspecies C57BL/6J

Age Adulte

Gender Femme

Morphology De type épithélial

Cellules Hep-56.1B | 400102

Growth properties	Adepte
--------------------------	--------

Données réglementaires

Citation	Hep-56.1B (numéro de catalogue Cytion 400202)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5767
-----------------------------	-----------

Données biomoléculaires

Protein expression	Kératine 8, kératine 18, vimentine.
---------------------------	-------------------------------------

Tumorigenic	Oui, chez les souris C57BL/6J
--------------------	-------------------------------

Mutational profile	Mutation du gène p53 (codons 277 de l'exon 8 => arginine -- thréonine).
---------------------------	---

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
-----------------------------	----------

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-56.1B | 400102

Seeding density 1×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal Tous les 3 à 5 jours

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemercer les cellules à une densité de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 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-56.1B | 400102

**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.