

**Buňky Hep-56.1D | 400204****Obecné informace****Description**

Hepatomová buněčná linie Hep-56.1D je odvozena z myšího jaterního nádoru, konkrétně z myšího kmene C57BL/6J. Tato buněčná linie se vyznačuje nápadnou mutací v genu p53, která byla identifikována v různých fázích množení in vitro. Konkrétně Hep-56.1D vykazuje transverzi C:G na G:C v kodonu 132 exonu 5, což vede ke změně aminokyseliny z cysteinu na tryptofan. Tato mutace byla zjištěna při pasáži číslo 17, což naznačuje selektivní růstovou výhodu, kterou mutace poskytuje, a vede k její převaze v populaci buněk.

Buněčná linie Hep-56.1D vykazuje převážně epiteliální morfologii, což odráží její hepatocytární původ. To odpovídá jejímu profilu proteinů intermediárních vláken, který zahrnuje jednoduché keratiny K8 a K18, jakož i vimentin a keratin K19 v různé míře. Přítomnost těchto proteinů potvrzuje hepatocytární povahu buněčné linie a její zařazení mezi hepatomy.

Další analýza Hep-56.1D pomocí DNA fingerprintingu neodhalila žádné zásadní strukturální abnormality, ačkoli s rostoucím počtem pasáží byly pozorovány určité změny v relativní intenzitě specifických pásů. To naznačuje genomickou stabilitu s určitou mírou variability během delšího kultivačního období. Analýza mutací p53 a vzorce exprese proteinů intermediárních vláken společně stanovují Hep-56.1D jako cenný model pro studium hepatocelulárního karcinomu a úlohy mutací p53 v jaterní tumorigenezi.

<b>Organism</b>	Myš
<b>Tissue</b>	Játra
<b>Disease</b>	Hepatocelulární karcinom
<b>Synonyms</b>	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

**Charakteristika**

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Dospělí
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné
<b>Growth properties</b>	Adherentní

**Regulační údaje**

**Buňky Hep-56.1D | 400204****Citation** Hep-56.1D (katalogové číslo Cytion 400204)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5769**Biomolekulární data****Protein expression** Keratin 8, keratin 18, vimentin.**Tumorigenic** Ano, u myši C57BL/6J. Ve třetím týdnu se vytvoří nádory o průměru přibližně 5-6 mm.**Ploidy status** Aneuploidní**Mutational profile** P53mut, transverze C:G → G:C v kodonu 132 exonu 5 myšního p53, která odpovídá změně aminokyseliny z cysteinu na tryptofan.**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 25 až 30 hodin**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8

**Buňky Hep-56.1D | 400204**

**Seeding density** 1 až  $2 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup> během rutinní kultivace

**Fluid renewal** Každé 3 až 4 dny

**Post-Thaw Recovery** > 90 % buněk se zotaví z procesu zmrazování během 24 až 48 hodin

**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, zvlhčená atmosféra.

## Buňky Hep-56.1D | 400204

### Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

### Profil STR

**M\_18-3:** 16  
**M\_4-2:** 20.3  
**M\_6-7:** 17  
**M\_3-2:** 14  
**M\_19-2:** 13  
**M\_7-1:** 26.2  
**M\_1-1:** 16  
**M\_8-1:** 16  
**M\_2-1:** 15  
**M\_15-3:** 22.3  
**M\_6-4:** 18  
**M\_11-2:** 16  
**M\_1-2:** 19  
**M\_17-2:** 15  
**M\_12-1:** 17  
**M\_5-5:** 17  
**M\_X-1:** 28  
**M\_13-1:** 17  
**Human D4/D8:** -