

## Hep-56.1D-solut | 400204

## Yleisiä tietoja

## Description

Hep-56.1D-hepatoomasolulinja on peräisin hiiren maksakasvaimesta, erityisesti C57BL/6J-hiirikannasta. Tälle solulinjalle on ominaista huomattava p53-geenin mutaatio, joka on tunnistettu eri vaiheissa in vitro -lisäyksen aikana. Erityisesti Hep-56.1D:ssä on C:G:stä G:C:ksi muuttunut transversio eksoni 5:n koodonissa 132, mikä johtaa aminohapon vaihtumiseen kysteiniinistä tryptofaaniksi. Tämä mutaatio havaittiin läpiviennissä numero 17, mikä viittaa mutaation antamaan valikoivaan kasvualueeseen, joka johtaa sen vallitsevuuteen solupopulaatiossa.

Hep-56.1D-solulinjalla on pääasiassa epiteelimorfologia, mikä kuvastaa sen hepatosyyttistä alkuperää. Tämä on yhdenmukaista sen intermediaaristen filamenttien proteiiniprofiilin kanssa, johon kuuluvat yksinkertaiset keratiinit K8 ja K18 sekä vaihtelevassa määrin vimentiini ja keratiini K19. Näiden proteiinien esiintyminen vahvistaa solulinjan hepatosyyttisen luonteen ja sen luokittelun hepatoomalinjaksi.

Hep-56.1D:n tarkempi analyysi DNA-sormenjäljen avulla ei paljastanut merkittäviä rakenteellisia poikkeavuuksia, vaikka tiettyjen kaistojen suhteellisessa intensiteetissä havaittiin joitakin muutoksia läpivirtauslukujen kasvaessa. Tämä viittaa genomiseen vakauteen, johon liittyy jonkinasteista vaihtelua pitkien viljelyjaksojen aikana. P53-mutaatioanalyysi ja välijuosteiden proteiinien ilmentymismallit yhdessä tekevät Hep-56.1D:stä arvokkaan mallin hepatosellulaarisen karsinooman ja p53-mutaatioiden roolin tutkimiseen maksan kasvainten synnyssä.

<b>Organism</b>	Hiiri
<b>Tissue</b>	Maksa
<b>Disease</b>	Hepatosellulaarinen karsinooma
<b>Synonyms</b>	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1D, 56.1d

## Ominaisuudet

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Aikuiset
<b>Gender</b>	Nainen
<b>Morphology</b>	Epiteelin kaltainen
<b>Growth properties</b>	Tarttuva

## Säätelytiedot

## Hep-56.1D-solut | 400204

<b>Citation</b>	Hep-56.1D (Cytionin luettelonumero 400204)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5769

## Biomolekyylitiedot

<b>Protein expression</b>	Keratiini 8, keratiini 18, vimentiini.
<b>Tumorigenic</b>	Kyllä, C57BL/6J-hiirillä. Kolmannella viikolla kehittyy kasvaimia, joiden halkaisija on noin 5-6 mm.
<b>Ploidy status</b>	Aneuploidinen
<b>Mutational profile</b>	P53mut, C:G → G:C transversio hiiren p53:n eksonin 5 koodonissa 132, joka vastaa aminohapon vaihtumista kysteiinistä tryptofaaniksi.

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	25-30 tuntia
<b>Subculturing</b>	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
<b>Seeding density</b>	1–2 x 10 <sup>4</sup> solua/cm <sup>2</sup> rutiiniviljelmässä

## Hep-56.1D-solut | 400204

**Fluid renewal** 3-4 päivän välein

**Post-Thaw Recovery** >90 % soluista palautuu pakastuksesta 24-48 tunnin kuluessa

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

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

## Hep-56.1D-solut | 400204

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikais säilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.