

## Hep-56.1D sejtek | 400204

## Általános információk

## Description

A Hep-56.1D hepatóma sejtvonala egér májtumorból származik, kifejezetten a C57BL/6J egértörzsből. Ezt a sejtvonala a p53 gén egy jelentős mutációja jellemzi, amelyet az in vitro szaporítás során különböző passzázásokban azonosítottak. Konkrétan a Hep-56.1D az 5. exon 132-es kodonjánál C:G-ről G:C-re történő transzverziót mutat, ami ciszteinről triptofánra történő aminosavváltást eredményez. Ezt a mutációt a 17. passzázatszámánál észlelték, ami a mutáció által biztosított szelektív növekedési előnyre utal, ami a sejtpopulációban való túlsúlyához vezet.

A Hep-56.1D sejtvonala túlnyomórészt epiteliális morfológiát mutat, ami hepatocita eredetét tükrözi. Ez összhangban van az intermedier filamentum fehérjeprofiljával, amely tartalmazza az egyszerű keratinokat K8 és K18, valamint a vimentint és a keratin K19-et különböző mértékben. E fehérjék jelenléte megerősíti a sejtvonala hepatocita jellegét és hepatóma vonalnak való besorolását.

A Hep-56.1D további, DNS-ujjlenyomat-elemzéssel végzett elemzése nem mutatott ki jelentős szerkezeti rendellenességeket, bár az egyes sávok relatív intenzitásában a passzázatszám növekedésével bizonyos változásokat figyeltünk meg. Ez genomikai stabilitásra utal, bizonyos fokú változékonysággal a hosszabb tenyésztési időszakok alatt. A p53 mutációelemzés és az intermedier filament fehérje expressziós mintázatok együttesen a Hep-56.1D-t értékes modellként határozzák meg a hepatocelluláris karcinóma és a p53 mutációk májtumorigenezisben betöltött szerepének tanulmányozására.

## Organism

Egér

## Tissue

Máj

## Disease

Hepatocelluláris karcinóma

## Synonyms

HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d, 56.1d

## Jellemzők

## Breed/Subspecies

C57BL/6J

## Age

Felnőtt

## Gender

Női

## Morphology

Epithelszerű

## Growth properties

Adherent

## Szabályozási adatok

## Hep-56.1D sejtek | 400204

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

## Biomolekuláris adatok

<b>Protein expression</b>	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.
<b>Tumorigenic</b>	Igen, C57BL/6J egerekben. A harmadik héten kb. 5-6 mm átmérőjű tumorok alakulnak ki.
<b>Ploidy status</b>	Aneuploid
<b>Mutational profile</b>	P53mut, C:G → G:C transzverzió az egér p53 5. exonjának 132-es kodonjánál, ami egy aminosavcserének felel meg, ciszteinről triptofánra.

## A kezelése

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
<b>Supplements</b>	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	25-30 óra
<b>Subculturing</b>	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
<b>Seeding density</b>	1–2 x 10 <sup>4</sup> sejt/cm <sup>2</sup> rutin tenyésztés során

## Hep-56.1D sejtek | 400204

**Fluid renewal** 3-4 naponta

**Post-Thaw Recovery** a sejtek >90%-a 24-48 órán belül visszanyerte a fagyasztásból származó sejteket

**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

### Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere**  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

## Hep-56.1D sejtek | 400204

### Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül  $-150$  és  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.