

## Hep-56.1B sejtek | 400202

## Általános információk

## Description

A Hep-70.4 hepatóma sejtvonala egér májtumorból származik, kifejezetten a C57BL/6J egértörzsből. Ez a sejtvonala a p53 gén mutációiról nevezetes, amelyeket az in vitro szaporítás során különböző passzázsokban azonosítottak. A 8. passzáznál az egyszálú konformációs polimorfizmus (SSCP) analízis során gyenge kiegészítő jelet észleltek, ami p53 mutáció jelenlétére utal. A 38. passzázsáig két különböző p53 pontmutációt azonosítottak: egy G:C-ről C:G-re történő transzverziót a 135-ös kodonnál és egy C:G-ről G:C-re történő transzverziót az 5. exon 138-as kodonjánál. Ezek a mutációk aminosavváltásokat eredményeztek: alaninról prolinra, illetve ciszteinről triptofánra.

A Hep-70.4 sejtvonala morfológiai fenotípust mutat, amely szaporodása során jelentősen változik. Egyes alvonalak epiteliális morfológiát mutatnak, míg mások fibroblaszt-szerű megjelenést mutatnak. Ez a heterogenitás a sejtvonala összetett természetét és a különböző tenyésztési körülmények közötti alkalmazkodóképességét tükrözi. A normális és mutáns p53 allélok jelenléte a korai passzázsokban arra utal, hogy a mutációk szelektív növekedési előnyt biztosítanak, ami idővel a mutáns klónok túlsúlyához vezet.

A Hep-70.4 sejtvonala intermedier filamentum fehérjeanalízise kimutatta a normális májsejtekre jellemző K8 és K18 egyszerű keratinok, valamint a vimentin és a K19 keratin különböző mértékű expresszióját. Ezek a fehérjemintázatok megerősítik a sejtvonala hepatocita eredetét és hepatóma vonalnak való besorolását. A Hep-70.4 genomikai stabilitását DNS-ujjlenyomat-elemzéssel vizsgáltuk tovább, amely nem mutatott ki jelentős szerkezeti eltéréseket, bár a passzázs szám növekedésével egyes sávok relatív intenzitásának változásait figyeltük meg.

<b>Organism</b>	Egér
<b>Tissue</b>	Máj
<b>Disease</b>	Hepatocelluláris karcinóma
<b>Synonyms</b>	HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

## Jellemzők

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Felnőtt
<b>Gender</b>	Női
<b>Morphology</b>	Epithelszerű
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Hep-56.1B sejtek | 400202

## Szabályozási adatok

<b>Citation</b>	Hep-56.1B (Cytion katalógusszám 400202)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5767

## Biomolekuláris adatok

<b>Protein expression</b>	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.
<b>Tumorigenic</b>	Igen, C57BL/6J egerekben
<b>Mutational profile</b>	P53mut (277-es kodon a 8-as exonban => Arginin -- Threonin).

## 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>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 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. 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>	$1 \times 10^4$ sejt/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	3-5 naponta

## Hep-56.1B sejtek | 400202

**Post-Thaw Recovery**

Felolvasztás után helyezze a sejteket  $5 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

**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.

**Flask Coating**

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

## Hep-56.1B sejtek | 400202

### Freezing Procedure

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

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -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  $-196\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ °C}$ -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.