

## Hep-56.1D ląstelės | 400204

## Bendra informacija

## Description

Hep-56.1D hepatomos ląstelių linija yra gauta iš pelių kepenų naviko, konkrečiai iš C57BL/6J pelių padermės. Šiai ląstelių linijai būdinga pastebima p53 geno mutacija, nustatyta įvairiuose dauginimo in vitro etapuose. Konkrečiai, Hep-56.1D turi transversiją iš C:G į G:C 5 egzono 132 kodone, dėl kurios aminorūgštis iš cisteino pasikeičia į triptofaną. Ši mutacija buvo aptikta 17-os eigos metu, o tai rodo, kad ši mutacija suteikia selektyvų augimo pranašumą, dėl kurio ji vyrauja ląstelių populiacijoje.

Hep-56.1D ląstelių linija pasižymi daugiausia epiteline morfologija, o tai rodo jos hepatocitinę kilmę. Tai atitinka jos tarpinių gijų baltymų profilį, kurį sudaro paprasti keratinai K8 ir K18, taip pat įvairiu laipsniu vimentinas ir keratinas K19. Šių baltymų buvimas patvirtina hepatocitinę ląstelių linijos prigimtį ir jos priskyrimą hepatomos linijai.

Tollesnė Hep-56.1D analizė naudojant DNR pirštų atspaudus neatskleidė jokių didesnių struktūrinių anomalijų, nors didėjant ląstelių skaičiui pastebėta tam tikrų specifinių juostų santykinio intensyvumo pokyčių. Tai rodo genomo stabilumą su tam tikru kintamumu per ilgesnį auginimo laikotarpį. P53 mutacijų analizė ir tarpinių filamentinių baltymų raiškos modeliai patvirtina, kad Hep-56.1D yra vertingas modelis hepatocelulinei karcinomai ir p53 mutacijų vaidmeniui kepenų navikams tirti.

<b>Organism</b>	Pelė
<b>Tissue</b>	Kepenys
<b>Disease</b>	Hepatocelulinė karcinoma
<b>Synonyms</b>	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

## Charakteristikos

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Suaugusiųjų
<b>Gender</b>	Moteris
<b>Morphology</b>	Į epitelį panašus
<b>Growth properties</b>	Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

## Hep-56.1D ląstelės | 400204

**Citation** Hep-56.1D (Cytion katalogo numeris 400204)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_5769

## Biomolekuliniai duomenys

**Protein expression** Keratinas 8, keratinas 18, vimentinas.

**Tumorigenic** Taip, C57BL/6J pelėms. Trečiąją savaitę išsivysto maždaug 5-6 mm skersmens navikai.

**Ploidy status** Aneuploidinis

**Mutational profile** P53mut, C:G → G:C transversija pelės p53 5 egzono 132 kodone, atitinkanti aminorūgšties pakeitimą iš cisteino į triptofaną.

## Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 25-30 valandų

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Seeding density** 1-2 x 10<sup>4</sup> ląstelės/cm<sup>2</sup> įprastinės kultūros metu

## Hep-56.1D ląstelės | 400204

**Fluid renewal** Kas 3-4 dienas

**Post-Thaw Recovery** > 90 % ląstelių atsigavo po užšaldymo proceso per 24-48 val

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

## Hep-56.1D ląstelės | 400204

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.