

## Hep-56.1B-celler | 400202

## Generell informasjon

## Description

Hep-70.4 hepatomcellelinjen er avledet fra en leversvulst fra mus, nærmere bestemt fra musestammen C57BL/6J. Denne cellelinjen er kjent for sine mutasjoner i p53-genet, som ble identifisert ved forskjellige passeringer under in vitro-oppformering. Ved passasje nummer 8 ble det oppdaget et svakt tilleggssignal i SSCP-analysen (single-strand conformation polymorphism), noe som indikerte tilstedeværelsen av en p53-mutasjon. Ved passasje nummer 38 ble det identifisert to forskjellige punktmutasjoner i p53: en G:C til C:G-transversjon ved kodon 135 og en C:G til G:C-transversjon ved kodon 138 i ekson 5. Disse mutasjonene førte til aminosyreendringer fra henholdsvis alanin til prolin og cystein til tryptofan.

Hep-70.4-cellelinjen viser en morfologisk fenotype som varierer betydelig i løpet av formeringen. Noen sublinjer viser en epitel-morfologi, mens andre har et fibroblastlignende utseende. Denne heterogeniteten gjenspeiler cellelinjens komplekse natur og dens tilpasningsevne under ulike dyrkingsforhold. Tilstedeværelsen av både normale og muterte p53-alleler i de tidlige passasjene tyder på at mutasjonene gir en selektiv vekstfordel, noe som fører til en overvekt av muterte kloner over tid.

Analyse av intermedieære filamentproteiner i Hep-70.4-cellelinjen avslørte uttrykk av de enkle keratinene K8 og K18, som er typiske for normale leverceller, samt vimentin og keratin K19 i varierende grad. Disse proteinmønstrene bekrefter cellelinjens hepatocytiske opprinnelse og klassifiseringen som en hepatomlinje. Den genomiske stabiliteten til Hep-70.4 ble videre vurdert ved hjelp av DNA-fingeravtryksanalyse, som ikke avslørte noen større strukturelle abnormiteter, selv om det ble observert endringer i den relative intensiteten til enkelte bånd med økende passasjeantall.

<b>Organism</b>	Mus
<b>Tissue</b>	Lever
<b>Disease</b>	Hepatocellulært karsinom
<b>Synonyms</b>	HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

## Kjennetegn

<b>Breed/Subspecies</b>	C57BL/6J
<b>Age</b>	Voksen
<b>Gender</b>	Kvinne
<b>Morphology</b>	Epitel-lignende
<b>Growth properties</b>	Vedhengende

## Hep-56.1B-celler | 400202

## Regulatoriske data

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

## Biomolekylære data

<b>Protein expression</b>	Keratin 8, Keratin 18, Vimentin.
<b>Tumorigenic</b>	Ja, hos C57BL/6J-mus
<b>Mutational profile</b>	P53mut (kodon 277 i ekson 8 => Arginin -- Threonin).

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
<b>Split ratio</b>	Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> celler/cm <sup>2</sup>

**Hep-56.1B-celler | 400202****Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, befuktet atmosfære.**Flask Coating** For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

## Hep-56.1B-celler | 400202

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**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:** -