

Bunky Hep-56.1D | 400204**Všeobecné informácie****Description**

Hepatómová bunková línia Hep-56.1D je odvodená z nádoru pečene myši, konkrétne z kmeňa C57BL/6J. Táto bunková línia sa vyznačuje pozoruhodnou mutáciou v géne p53, ktorá bola identifikovaná v rôznych fázach počas in vitro rozmnožovania. Konkrétne Hep-56.1D vykazuje transverziu C:G na G:C v kodóne 132 exónu 5, čo vedie k zmene aminokyseliny z cysteínu na tryptofán. Táto mutácia bola zistená pri pasáži číslo 17, čo naznačuje selektívnu rastovú výhodu, ktorú mutácia poskytuje, čo vedie k jej prevahe v bunkovej populácii.

Bunková línia Hep-56.1D vykazuje prevažne epitelovú morfológiu, čo odráža jej hepatocytárny pôvod. To je v súlade s jej profilom bielkovín intermediárnych vlákien, ktorý zahŕňa jednoduché keratíny K8 a K18, ako aj vimentín a keratín K19 v rôznej miere. Prítomnosť týchto proteínov potvrdzuje hepatocytárny charakter bunkovej línie a jej klasifikáciu ako hepatómovej línie.

Ďalšia analýza Hep-56.1D pomocou DNA fingerprintingu neodhalila žiadne väčšie štrukturálne abnormality, hoci s rastúcim počtom pasáží sa pozorovali určité zmeny v relatívnej intenzite špecifických pásov. To naznačuje genomickú stabilitu s určitým stupňom variability počas dlhších kultivačných období. Analýza mutácií p53 a vzorce expresie proteínov intermediárnych vlákien spolu vytvárajú Hep-56.1D ako cenný model na štúdium hepatocelulárneho karcinómu a úlohy mutácií p53 v tumorigenéze pečene.

Organism	Myš
Tissue	Pečeň
Disease	Hepatocelulárny karcinóm
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Charakteristika

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Dospelí
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Bunky Hep-56.1D | 400204**Citation** Hep-56.1D (katalógové číslo Cytion 400204)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5769**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Keratín 8, keratín 18, vimentín.**Tumorigenic** Áno, u myši C57BL/6J. V treťom týždni sa vytvoria nádory s priemerom približne 5 - 6 mm.**Ploidy status** Aneuploidné**Mutational profile** P53mut, C:G → G:C transverzia na kodóne 132 exónu 5 myšieho p53, ktorá zodpovedá zmene aminokyseliny z cysteínu na tryptofán.**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 25 až 30 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1 až 2 x 10⁴ buniek/cm² počas bežnej kultivácie

Bunky Hep-56.1D | 400204**Fluid renewal** Každé 3 až 4 dni**Post-Thaw Recovery** > 90 % buniek sa zotavilo z procesu zmrazovania v priebehu 24 až 48 hodín**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žiadne

Bunky Hep-56.1D | 400204

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.