

**Bunky Hep-56.1B | 400202****Všeobecné informácie****Description**

Hepatómová bunková línia Hep-70.4 je odvodená z nádoru pečene myší, konkrétne z kmeňa C57BL/6J. Táto bunková línia je pozoruhodná svojimi mutáciami v géne p53, ktoré boli identifikované v rôznych fázach počas množenia in vitro. Pri pasáži číslo 8 sa pri analýze polymorfizmu konformácie jedného reťazca (SSCP) zistil slabý dodatočný signál, ktorý naznačuje prítomnosť mutácie p53. Pri pasáži číslo 38 boli identifikované dve odlišné bodové mutácie p53: G:C na C:G transverzia na kodóne 135 a C:G na G:C transverzia na kodóne 138 exónu 5. Tieto mutácie viedli k zmenám aminokyselín z alanínu na prolín a cysteínu na tryptofán.

Bunková línia Hep-70.4 vykazuje morfológický fenotyp, ktorý sa počas jej rozmnožovania výrazne mení. Niektoré sublínie vykazujú epitelovú morfológiu, zatiaľ čo iné vykazujú vzhľad podobný fibroblastom. Táto heterogenita odráža komplexnú povahu bunkovej línie a jej adaptabilitu v rôznych kultivačných podmienkach. Prítomnosť normálnych aj mutovaných alel p53 v prvých pasážach naznačuje, že mutácie poskytujú selektívnu rastovú výhodu, čo časom vedie k prevahe mutovaných klonov.

Analýza proteínov intermediárnych vlákien bunkovej línie Hep-70.4 odhalila expresiu jednoduchých keratínov K8 a K18, ktoré sú typické pre normálne pečenevé bunky, ako aj vimentínu a keratínu K19 v rôznej miere. Tieto proteínové vzorce potvrdzujú hepatocytárny pôvod bunkovej línie a jej klasifikáciu ako hepatómovej línie. Genomická stabilita Hep-70.4 sa ďalej hodnotila prostredníctvom analýzy odtlačkov DNA, ktorá neodhalila žiadne závažné štrukturálne abnormality, hoci sa pozorovali zmeny v relatívnej intenzite určitých pásov so zvyšujúcim sa počtom pasáží.

**Organism**

Myš

**Tissue**

Pečeň

**Disease**

Hepatocelulárny karcinóm

**Synonyms**

HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

**Charakteristika****Breed/Subspecies**

C57BL/6J

**Age**

Dospelí

**Gender**

Ženy

**Morphology**

Epitelu podobné

**Growth properties**

Adherent

**Bunky Hep-56.1B | 400202****Regulačné údaje**

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

**Biomolekulárne údaje**

<b>Protein expression</b>	Keratín 8, keratín 18, vimentín.
<b>Tumorigenic</b>	Áno, u myší C57BL/6J
<b>Mutational profile</b>	P53mut (kodón 277 v exóne 8 => arginín -- treonín).

**Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobu Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Každých 3 až 5 dní

**Bunky Hep-56.1B | 400202****Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii  $5 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 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 % CO<sub>2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

## Bunky Hep-56.1B | 400202

### 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.