

Celice Hep-56.1D | 400204**Splošne informacije****Description**

Hepatomska celična linija Hep-56.1D je pridobljena iz tumorja jeter miši, natančneje iz seva C57BL/6J. Za to celično linijo je značilna opazna mutacija v genu p53, ugotovljena v različnih fazah med razmnoževanjem in vitro. Pri Hep-56.1D je na kodonu 132 eksona 5 prišlo do transverzije C:G v G:C, kar povzroči spremembo aminokislin iz cisteina v triptofan. Ta mutacija je bila odkrita pri prehodu št. 17, kar kaže na selektivno prednost pri rasti, ki jo daje mutacija, zaradi česar prevladuje v populaciji celic.

Celična linija Hep-56.1D ima pretežno epitelijsko morfologijo, kar kaže na njen hepatocitni izvor. To se ujema z njenim profilom proteinov vmesnih filamentov, ki vključuje preprosta keratina K8 in K18 ter v različnem obsegu tudi vimentin in keratin K19. Prisotnost teh beljakovin potrjuje hepatocitno naravo celične linije in njeno uvrstitev med hepatomske linije.

Nadaljnja analiza Hep-56.1D z uporabo prstnih odtisov DNK ni razkrila nobenih večjih strukturnih nepravilnosti, čeprav je bilo opaziti nekatere spremembe v relativni intenzivnosti določenih pasov z naraščanjem števila prehodov. To kaže na genomsko stabilnost z določeno stopnjo variabilnosti v daljših obdobjih gojenja. Analiza mutacij p53 in vzorci izražanja proteinov vmesnih filamentov skupaj vzpostavljajo Hep-56.1D kot dragocen model za preučevanje hepatocelularnega karcinoma in vloge mutacij p53 pri tumorigenezi jeter.

Organism	Miška
Tissue	Jetra
Disease	Hepatocelularni karcinom
Synonyms	HEP-56.1D, 56.1D, 56.1d

Značilnosti

Breed/Subspecies	C57BL/6J
Age	Odrasli
Gender	Ženske
Morphology	Epitelijam podobni
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Celice Hep-56.1D | 400204**Citation** Hep-56.1D (katalogska številka Cytion 400204)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5769**Biomolekularni podatki****Protein expression** Keratin 8, keratin 18, vimentin.**Tumorigenic** Da, pri miših C57BL/6J. V tretjem tednu se razvijejo tumorji s premerom približno 5-6 mm.**Ploidy status** Aneuploidni**Mutational profile** P53mut, transverzija C:G → G:C na kodonu 132 eksona 5 mišjega p53, ki ustreza spremembi aminokislin s cisteina na triptofan.**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 25 do 30 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 1 do 2 x 10⁴ celic/cm² med rutinskim gojenjem

Celice Hep-56.1D | 400204

Fluid renewal Vsakih 3 do 4 dni

Post-Thaw Recovery > 90 % celic se obnovi po postopku zamrzovanja v 24 do 48 urah

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Celice Hep-56.1D | 400204

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.