

## Celice Hep-56.1B | 400202

## Splošne informacije

## Description

Hepatomska celična linija Hep-70.4 je pridobljena iz tumorja jeter miši, natančneje iz seva C57BL/6J. Ta celična linija se odlikuje po mutacijah gena p53, ki so bile ugotovljene v različnih fazah med razmnoževanjem in vitro. Pri prehodu številka 8 je bil pri analizi polimorfizma z enoverižno konformacijo (SSCP) zaznan šibek dodatni signal, ki kaže na prisotnost mutacije p53. Pri prehodu številka 38 sta bili ugotovljeni dve različni točkovni mutaciji p53: transverzija G:C v C:G na kodonu 135 in transverzija C:G v G:C na kodonu 138 eksona 5. Ti mutaciji sta povzročili spremembe aminokislin iz alanina v prolin oziroma iz cisteina v triptofan.

Celična linija Hep-70.4 ima morfološki fenotip, ki se med razmnoževanjem znatno spreminja. Nekatere podlinje imajo epiteljsko morfologijo, druge pa fibroblastni videz. Ta heterogenost odraža kompleksno naravo celične linije in njeno prilagodljivost v različnih pogojih gojenja. Prisotnost normalnih in mutiranih alelov p53 v zgodnjih fazah kaže, da mutacije dajejo selektivno prednost pri rasti, zaradi česar sčasoma prevladujejo mutirani kloni.

Analiza proteinov vmesnih filamentov celične linije Hep-70.4 je pokazala izražanje preprostih keratinov K8 in K18, ki sta značilna za normalne jetrne celice, pa tudi vimentina in keratina K19 v različnih stopnjah. Ti proteinski vzorci potrjujejo hepatocitni izvor celične linije in njeno uvrstitev med hepatomske linije. Genomska stabilnost Hep-70.4 je bila nadalje ocenjena z analizo prstnih odtisov DNK, ki ni razkrila nobenih večjih strukturnih nepravilnosti, čeprav so bile s povečevanjem števila prehodov opažene spremembe v relativni intenzivnosti nekaterih pasov.

**Organism** Miška

**Tissue** Jetra

**Disease** Hepatocelularni karcinom

**Synonyms** HEP-56.1B, 56.1B, 56.1b

## Značilnosti

**Breed/Subspecies** C57BL/6J

**Age** Odrasli

**Gender** Ženske

**Morphology** Epitelijam podobni

**Growth properties** Pripadajoče

## Regulativni podatki

**Celice Hep-56.1B | 400202****Citation** Hep-56.1B (katalogska številka Cytion 400202)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5767**Biomolekularni podatki****Protein expression** Keratin 8, keratin 18, vimentin.**Tumorigenic** Da, pri miših C57BL/6J**Mutational profile** P53mut (kodon 277 v eksonu 8 => Arginin -- Threonin).**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**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 prekritje 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**  $1 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Vsakih 3 do 5 dni**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti  $5 \times 10^4$  cel<sup>ic</sup>/cm<sup>2</sup> in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

## Celice Hep-56.1B | 400202

### 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, povzročenga 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 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## Celice Hep-56.1B | 400202

### 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  $-78^{\circ}\text{C}$ . 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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  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.