

Клетки HUH-1 | 305553

Обща информация

Description

Клетъчната линия HuH-1 е получена от човешки хепатоцелуларен карцином (HCC) и се използва широко в изследванията на рака на черния дроб. Тази клетъчна линия е показала способност да произвежда и секретира различни специфични за черния дроб протеини, включително такива, които обикновено се срещат в човешката плазма. Забележително е, че клетките HuH-1, подобно на други човешки хепатомни клетъчни линии, могат да експресират и отделят повърхностния антиген на хепатит В (HBsAg) в култура, като по този начин предоставят модел за изучаване на механизмите на HCC, свързани с вируса на хепатит В. Способността да произвеждат HBsAg в култура предполага, че клетките HuH-1 запазват диференцирани функции, подобни на тези на чернодробните клетки *in vivo*.

Клетките HuH-1 играят също така ключова роля в изследването на регулаторните механизми при рака на черния дроб, особено тези, свързани с микроРНК и техните мишени. Например, проучвания са показали, че повишената експресия на miR-182 може да засили метастатичния потенциал на клетките на хепатоцелуларния карцином (HCC), включително HuH-1, чрез потискане на експресията на супресора на метастазите 1 (MTSS1). Това потискане насърчава инвазивното поведение и подчертава ролята на специфични микроРНК в модулирането на генната експресия и повлияването на поведението на раковите клетки. Такива познания са ценни за разбирането на прогресията на ХЦК и разработването на целеви терапевтични стратегии.

Приложимостта на клетъчната линия HuH-1 се простира до изследвания на туморната микросреда и нейните взаимодействия с вирусни елементи, което я превръща в подходящ модел за проучване на сложните взаимоотношения между онкогени, супресорни гени и вирусни протеини. Тази клетъчна линия спомага за изясняването на многостранните пътища на хепатокарциногенезата и разработването на противоракови терапии, съобразени с молекулярните основи на рака на черния дроб.

Organism

Човек

Tissue

Черен дроб

Disease

Хепатоцелуларен карцином при възрастни

Synonyms

huH-1, HuH-1, huH 1, HuH1, HUH1, huH1

Характеристики

Age

53 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Японски

Morphology

Подобни на епител

Клетки HUH-1 | 305553

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation

HUH-1 (каталожен номер на Cytion 305553)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2956

Биомолекулярни данни

Viruses

Трансформант: Вирусът на хепатит В (HBV). Клетките непрекъснато произвеждат HBs-антиген в културалната среда.

Mutational profile

Мутация: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (с.904_907delAACC); Мутация: TP53, p.Arg110Leu (с.329G>T), хомозиготна

Работа с

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements

Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с TrypLE Express, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density

 $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$

Клетки HUH-1 | 305553

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки HUH-1 | 305553

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.