

Buňky HUH-1 | 305553

Obecné informace

Description

Buněčná linie HuH-1 pochází z lidského hepatocelulárního karcinomu (HCC) a je hojně využívána ve výzkumu rakoviny jater. Tato buněčná linie prokázala schopnost produkovat a vylučovat různé proteiny specifické pro játra, včetně těch, které se typicky vyskytují v lidské plazmě. Je pozoruhodné, že buňky HuH-1, stejně jako jiné lidské hepatomové buněčné linie, mohou v kultuře exprimovat a uvolňovat povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg), čímž poskytují model pro studium mechanismů HCC souvisejících s virem hepatitidy B. Schopnost produkovat HBsAg v kultuře naznačuje, že buňky HuH-1 si zachovávají diferencované funkce podobné těm, které mají jaterní buňky in vivo.

Buňky HuH-1 hrají také klíčovou roli při zkoumání regulačních mechanismů u rakoviny jater, zejména těch, které zahrnují mikroRNA a jejich cíle. Studie například prokázaly, že zvýšená exprese miR-182 může zvýšit metastatický potenciál buněk HCC, včetně buněk HuH-1, a to prostřednictvím snížení exprese genu metastasis suppressor 1 (MTSS1). Tato downregulace podporuje invazivní chování a zdůrazňuje roli specifických mikroRNA při modulaci genové exprese a ovlivňování chování nádorových buněk. Tyto poznatky jsou cenné pro pochopení progresu HCC a vývoj cílených terapeutických strategií.

Využitelnost buněčné linie HuH-1 sahá až k výzkumu mikroprostředí nádoru a jeho interakcí s virovými prvky, což z ní činí vhodný model pro zkoumání složitých vztahů mezi onkogeny, supresorovými geny a virovými proteiny. Tato buněčná linie pomáhá objasnit mnohostranné cesty hepatokarcinogeneze a vývoj protinádorových terapií přizpůsobených molekulárním základům rakoviny jater.

Organism

Člověk

Tissue

Játra

Disease

Hepatocelulární karcinom u dospělých

Synonyms

huH-1, HuH-1, huH 1, HuH1, HU1, HUH1, huH1

Charakteristika

Age

53 let

Gender

Muži

Ethnicity

Japonský

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Buňky HUH-1 | 305553

Regulační údaje

Citation	HUH-1 (katalogové číslo Cytion 305553)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2956

Biomolekulární data

Viruses	Transformant: virus hepatitidy B (HBV). Buňky v kultivačním médiu nepřetržitě produkují antigen HBs.
Mutational profile	Mutace: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutace: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homozygotní

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem TrypLE Express, a to 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HUH-1 | 305553**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky HUH-1 | 305553

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.