

Κύτταρα HUH-1 | 305553

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά HuH-1 προέρχεται από ανθρώπινο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC) και χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα για τον καρκίνο του ήπατος. Αυτή η κυτταρική σειρά έχει δείξει την ικανότητα να παράγει και να εκκρίνει διάφορες πρωτεΐνες ειδικές για το ήπαρ, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που απαντώνται συνήθως στο ανθρώπινο πλάσμα. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα κύτταρα HuH-1, όπως και άλλες ανθρώπινες κυτταρικές σειρές ηπατώματος, μπορούν να εκφράζουν και να απελευθερώνουν το επιφανειακό αντιγόνο της ηπατίτιδας B (HBsAg) σε καλλιέργεια, παρέχοντας ένα μοντέλο για τη μελέτη των μηχανισμών του HCC που σχετίζονται με τον ιό της ηπατίτιδας B. Η ικανότητα παραγωγής του HBsAg σε καλλιέργεια υποδηλώνει ότι τα κύτταρα HuH-1 διατηρούν διαφοροποιημένες λειτουργίες παρόμοιες με αυτές των ηπατικών κυττάρων *in vivo*.

Τα κύτταρα HuH-1 διαδραματίζουν επίσης καθοριστικό ρόλο στη διερεύνηση των ρυθμιστικών μηχανισμών στον καρκίνο του ήπατος, ιδίως εκείνων που αφορούν τα μικρο-RNA και τους στόχους τους. Για παράδειγμα, μελέτες έχουν δείξει ότι η αύξηση της έκφρασης του miR-182 μπορεί να ενισχύσει το μεταστατικό δυναμικό των κυττάρων HCC, συμπεριλαμβανομένων των HuH-1, μέσω της υπορύθμισης του καταστολέα μεταστάσεων 1 (MTSS1). Αυτή η υπορύθμιση προάγει την εισβαλτική συμπεριφορά και αναδεικνύει τον ρόλο συγκεκριμένων μικρο-RNA στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και στην επίδραση της συμπεριφοράς των καρκινικών κυττάρων. Τέτοιες γνώσεις είναι πολύτιμες για την κατανόηση της εξέλιξης του HCC και την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπευτικών στρατηγικών.

Η χρησιμότητα της κυτταρικής σειράς HuH-1 επεκτείνεται στην έρευνα σχετικά με το μικροπεριβάλλον του όγκου και τις αλληλεπιδράσεις του με ιικά στοιχεία, καθιστώντας την ένα κατάλληλο μοντέλο για τη διερεύνηση των περίπλοκων σχέσεων μεταξύ ογκογονιδίων, γονιδίων καταστολής και ιικών πρωτεϊνών. Αυτή η κυτταρική σειρά συμβάλλει στην αποσαφήνιση των πολύπλευρων οδών της ηπατοκαρκινογένεσης και στην ανάπτυξη αντικαρκινικών θεραπειών προσαρμοσμένων στις μοριακές βάσεις του καρκίνου του ήπατος.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Ήπαρ

Disease

Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ενηλίκων

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Age

53 χρόνια

Gender

Άντρας

Ethnicity

Ιαπωνικά

Morphology

Επιθηλιοειδής

Κύτταρα HUH-1 | 305553

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation

HUH-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305553)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2956

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses

Μετασχηματισμένο στέλεχος: Ιός της ηπατίτιδας Β (HBV). Τα κύτταρα παράγουν συνεχώς το αντιγόνο HBs στο καλλιεργητικό μέσο.

Mutational profile

Μετάλλαξη: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC)· Μετάλλαξη: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), ομόζυγη

Χειρισμός

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements

Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με TrypLE Express, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Seeding density

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

Κύτταρα HUH-1 | 305553**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HUH-1 | 305553

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.