

HUH-1 rakud | 305553

Üldine teave

Description

HuH-1 rakuliin on saadud inimese hepatotsellulaarsest kartsinoomist (HCC) ja seda kasutatakse laialdaselt maksavähi uurimisel. See rakuliin on näidanud võimet toota ja eritada mitmesuguseid maksaspetsiifilisi valke, sealhulgas neid, mida tavaliselt leidub inimese plasmas. Tähelepanuväärne on, et HuH-1 rakud, nagu ka teised inimese hepatoma rakuliinid, suudavad kultuuris ekspresseerida ja eritada B-hepatiidi pinnantigeeni (HBsAg), pakkudes mudelit B-hepatiidi viirusega seotud HCC mehhanismide uurimiseks. Võime toota HBsAg-d kultuuris viitab sellele, et HuH-1 rakud säilitavad diferentseerunud funktsioone, mis sarnanevad in vivo maksarakkude omadega.

HuH-1 rakud on olulised ka maksavähi regulatsioonimehhanismide uurimisel, eriti nende puhul, mis hõlmavad mikroRNA-sid ja nende sihtmärke. Näiteks on uuringud näidanud, et miR-182 ülesreguleerimine võib suurendada HCC-rakkude, sealhulgas HuH-1 rakkude, metastaasipotentsiaali, allareguleerides metastaasisupressorit 1 (MTSS1). See allaregulatsioon soodustab invasiivset käitumist ja rõhutab spetsiifiliste mikroRNA-de rolli geeniekspressiooni moduleerimisel ja vähirakkude käitumise mõjutamisel. Sellised teadmised on väärtuslikud HCC progresseerumise mõistmiseks ja sihtotstarbeliste ravistrateegiate väljatöötamiseks.

HuH-1 rakuliini kasulikkus ulatub ka kasvajakrokeskkonna ja selle vastastikmõjude uurimiseni viiruslike elementidega, muutes selle sobivaks mudeliks onkogeenide, supressorgeenide ja viiruslike valkude vaheliste keerukate seoste uurimiseks. See rakuliin aitab selgitada maksavähi tekke mitmekülgseid mehhanisme ning arendada maksavähi molekulaarsetele alustele kohandatud vähivastaseid ravimeetodeid.

Organism

Inimene

Tissue

Maksa

Disease

Täiskasvanute hepatotsellulaarne kartsinoom

Synonyms

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

Omadused

Age

53 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Jaapani

Morphology

Epiteelilaadsed

Growth properties

Kinnipeetav

HUH-1 rakud | 305553

Regulatiivsed andmed

Citation	HUH-1 (Cytioni katalooginumber 305553)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2956

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Transformant: B-hepatiidi viirus (HBV). Rakud toodavad kultuurikeskkonnas pidevalt HBs-antigeeni.
Mutational profile	Mutatsioon: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutatsioon: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homosügootne

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult TrypLE Expressiga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeeruda 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Freeze medium	Krüsäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HUH-1 rakud | 305553

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

HUH-1 rakud | 305553

Sterility

Mükoplasma kontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.