

HUH-1-solut | 305553

Yleisiä tietoja

Description

HuH-1-solulinja on peräisin ihmisen hepatosellulaarisesta karsinoomasta (HCC), ja sitä käytetään laajasti maksasyövän tutkimuksessa. Tämä solulinja on osoittanut kykenevänsä tuottamaan ja erittämään erilaisia maksakohtaisia proteiineja, mukaan lukien proteiineja, joita tyypillisesti esiintyy ihmisen plasmassa. Huomionarvoista on, että HuH-1-solut, kuten muutkin ihmisen hepatomasolulinjat, pystyvät ilmentämään ja erittämään B-hepatiitin pinta-antigeenia (HBsAg) viljelmässä, mikä tarjoaa mallin B-hepatiittivirukseen liittyvien HCC-mekanismien tutkimiseen. Kyky tuottaa HBsAg:ta viljelmässä viittaa siihen, että HuH-1-solut säilyttävät erilaistuneet toiminnot, jotka ovat samanlaisia kuin maksasolujen toiminnot in vivo.

HuH-1-solut ovat keskeisessä asemassa myös maksasyövän säätelymekanismien tutkimuksessa, erityisesti niissä, joihin liittyy mikroRNA:ita ja niiden kohdegeenejä. Esimerkiksi tutkimukset ovat osoittaneet, että miR-182:n ilmentymisen lisääntyminen voi tehostaa HCC-solujen, mukaan lukien HuH-1-solujen, metastaattista potentiaalia säätelemällä alaspäin metastaasien estäjää 1 (MTSS1). Tämä ilmentymisen heikentyminen edistää invasiivista käyttäytymistä ja korostaa tiettyjen mikroRNA:iden roolia geenien ilmentymisen säätelyssä ja syöpäsolujen käyttäytymiseen vaikuttamisessa. Tällaiset havainnot ovat arvokkaita HCC:n etenemisen ymmärtämisessä ja kohdennettujen hoitostrategioiden kehittämisessä.

HuH-1-solulinjan käyttökelpoisuus ulottuu kasvaimen mikroympäristön ja sen vuorovaikutusten tutkimukseen viruselementtien kanssa, mikä tekee siitä sopivan mallin onkogeenien, suppressorigeenien ja virusproteiinien välisten monimutkaisten suhteiden tutkimiseen. Tämä solulinja auttaa selventämään maksasyövän syntymisen monitahoisia reittejä sekä kehittämään maksasyövän molekyyli-tason perusteisiin räätälöityjä syöpälääkityksiä.

Organism

Ihminen

Tissue

Maksa

Disease

Aikuisten hepatosellulaarinen karsinooma

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

53 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Japanilainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva

HUH-1-solut | 305553

Säätelytiedot

Citation	HUH-1 (Cytionin tuotenumero 305553)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2956

Biomolekyyli tiedot

Viruses	Transformantti: B-hepatiittivirus (HBV). Solut tuottavat HBs-antigeeniä jatkuvasti viljelyliuoksessa.
Mutational profile	Mutaatio: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutaatio: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homotsygootti

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan TrypLE Express -valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen sekoita solut varovasti 10 ml:lla elatusainetta niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoi sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HUH-1-solut | 305553

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

HUH-1-solut | 305553

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.