

HUH-1 sejtek | 305553

Általános információk

Description

A HuH-1 sejtvonal egy humán hepatocelluláris karcinómából (HCC) származik, és széles körben alkalmazzák a májrák kutatásában. Ez a sejtvonal képes különböző májspecifikus fehérjék előállítására és kiválasztására, beleértve azokat is, amelyek jellemzően az emberi plazmában találhatók. Érdekes megjegyezni, hogy a HuH-1 sejtek – más humán hepatoma sejtvonalakhoz hasonlóan – tenyésztetben képesek a hepatitis B felszíni antigén (HBsAg) expresszáására és kiválasztására, így modellt biztosítva a hepatitis B vírussal kapcsolatos HCC-mechanizmusok tanulmányozásához. Az a képesség, hogy tenyésztetben HBsAg-t termeljenek, arra utal, hogy a HuH-1 sejtek megőrzik azokat a differenciált funkciókat, amelyek hasonlóak a májsejtek in vivo funkcióihoz.

A HuH-1 sejtek emellett kulcsfontosságúak a májrák szabályozó mechanizmusainak vizsgálatában, különösen a mikroRNS-ek és azok célpontjai tekintetében. Például tanulmányok kimutatták, hogy a miR-182 expressziójának fokozódása növelheti a HCC-sejtek – beleértve a HuH-1-et is – metasztatikus potenciálját a metasztázis-szuppresszor 1 (MTSS1) expressziójának csökkentése révén. Ez a lecsökkentés elősegíti az invazív viselkedést, és rávilágít a specifikus mikroRNS-ek szerepére a génexpresszió modulálásában és a ráksejtek viselkedésének befolyásolásában. Az ilyen ismeretek értékesek a HCC progressziójának megértéséhez és a célzott terápiás stratégiák kidolgozásához.

A HuH-1 sejtvonal alkalmazhatósága kiterjed a tumor mikrokörnyezetének, valamint annak a vírusos elemekkel való kölcsönhatásainak kutatására is, így megfelelő modellként szolgál az onkogének, a szuppresszor gének és a vírusfehérjék közötti bonyolult kapcsolatok feltárásához. Ez a sejtvonal segít a hepatokarcinogenezis sokrétű útjainak feltárásában, valamint a májrák molekuláris alapjaira szabott rákellenes terápiák kifejlesztésében.

Organism

Emberi

Tissue

Máj

Disease

Felnőttkori hepatocelluláris karcinóma

Synonyms

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

Jellemzők

Age

53 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Japán

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

HUH-1 sejtek | 305553

Szabályozási adatok

Citation	HUH-1 (Cytion katalógusszám: 305553)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2956

Biomolekuláris adatok

Viruses	Transformáns: Hepatitis B-vírus (HBV). A sejtek a tenyésztőközegben folyamatosan termelnek HBs-antigént.
Mutational profile	Mutáció: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutáció: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homozigóta

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen TrypLE Express-szel, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. Hagyjuk a sejteket 8-10 percig szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HUH-1 sejtek | 305553

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

HUH-1 sejtek | 305553

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.