

HUH-1 ląstelės | 305553

Bendra informacija

Description

HuH-1 ląstelių linija yra išskirta iš žmogaus hepatoceliulinės karcinomos (HCC) ir plačiai naudojama kepenų vėžio tyrimuose. Ši ląstelių linija pasižymi gebėjimu gaminti ir išskirti įvairius kepenims būdingus baltymus, įskaitant tuos, kurie paprastai randami žmogaus plazmoje. Pažymėtina, kad HuH-1 ląstelės, kaip ir kitos žmogaus hepatomos ląstelių linijos, kultūroje gali ekspresuoti ir išskirti hepatito B paviršiaus antigeną (HBsAg), taip suteikdamos modelį hepatito B viruso susijusių HCC mechanizmų tyrimams. Gebėjimas kultūroje gaminti HBsAg rodo, kad HuH-1 ląstelės išlaiko diferencijuotas funkcijas, panašias į kepenų ląstelių funkcijas in vivo.

HuH-1 ląstelės taip pat yra svarbios tiriant kepenų vėžio reguliavimo mechanizmus, ypač tuos, kuriuose dalyvauja mikroRNR ir jų taikiniai. Pavyzdžiui, tyrimai parodė, kad miR-182 ekspresijos padidėjimas gali sustiprinti HCC ląstelių, įskaitant HuH-1, metastazavimo potencialą, slopindamas metastazių slopintojo 1 (MTSS1) ekspresiją. Šis slopinimas skatina invazinę elgesį ir pabrėžia konkrečių mikroRNR vaidmenį reguliuojant genų ekspresiją bei darant įtaką vėžio ląstelių elgesiui. Tokios įžvalgos yra vertingos siekiant suprasti HCC progresavimą ir kuriant tikslinės terapijos strategijas.

HuH-1 ląstelių linijos pritaikymas apima tyrimus, susijusius su naviko mikroaplinka ir jos sąveika su virusiniais elementais, todėl ji yra tinkamas modelis, leidžiantis tirti sudėtingus ryšius tarp onkogenų, slopinančiųjų genų ir virusinių baltymų. Ši ląstelių linija padeda išsiaiškinti daugialypius hepatokarcinogenezės kelius ir kurti priešvėžines terapijas, pritaikytas prie kepenų vėžio molekulinės struktūros.

Organism Žmogus**Tissue** Kepenys**Disease** Suaugusiųjų hepatocelulinė karcinoma**Synonyms** huH-1, HuH-1, huH 1, HuH1, HUH1, HUH1, huH1

Charakteristikos

Age 53 metai**Gender** Vyras**Ethnicity** Japonų**Morphology** Į epitelį panašus**Growth properties** Priglundęs

Reguliavimo duomenys

HUH-1 ląstelės | 305553

Citation	HUH-1 (Cytion katalogo numeris 305553)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2956

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: hepatito B virusas (HBV). Ląstelės nuolat gamina HBs antigeną auginimo terpėje.
Mutational profile	Mutacija: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutacija: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homozigotinė

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tada visiškai užtepkite "TrypLE Express", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HUH-1 ląstelės | 305553

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

HUH-1 ląstelės | 305553

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.