

HUH-1 šūnas | 305553

Vispārīga informācija

Description

HuH-1 šūnu līnija ir iegūta no cilvēka hepatocelulārās karcinomas (HCC) un tiek plaši izmantota aknu vēža pētījumos. Šī šūnu līnija ir parādījusi spēju ražot un izdalīt dažādus aknām raksturīgus proteīnus, tostarp tos, kas parasti sastopami cilvēka plazmā. Jāatzīmē, ka HuH-1 šūnas, tāpat kā citas cilvēka hepatomas šūnu līnijas, kultūrā var ekspresēt un izdalīt B hepatīta virsmas antigēnu (HBsAg), tādējādi nodrošinot modeli B hepatīta vīrusam saistīto HCC mehānismu izpētei. Spēja ražot HBsAg kultūrā liecina, ka HuH-1 šūnas saglabā diferencētas funkcijas, kas līdzīgas aknu šūnu funkcijām in vivo.

HuH-1 šūnas ir nozīmīgas arī aknu vēža regulējošo mehānismu izpētē, jo īpaši tajos, kuros iesaistīti mikroRNS un to mērķi. Piemēram, pētījumi ir parādījuši, ka miR-182 ekspresijas paaugstināšanās var pastiprināt HCC šūnu, tostarp HuH-1, metastāzēšanas potenciālu, samazinot metastāžu supresora 1 (MTSS1) ekspresiju. Šī ekspresijas samazināšanās veicina invazīvu uzvedību un uzsver konkrētu mikroRNA lomu gēnu ekspresijas modulēšanā un vēža šūnu uzvedības ietekmēšanā. Šādi atklājumi ir vērtīgi, lai izprastu HCC progresēšanu un izstrādātu mērķtiecīgas terapeitiskas stratēģijas.

HuH-1 šūnu līnijas lietderība attiecas arī uz pētījumiem par audzēja mikrovidē un tās mijiedarbību ar vīrusu elementiem, padarot to par piemērotu modeli, lai izpētītu sarežģītās attiecības starp onkogēniem, supresoru gēniem un vīrusu proteīniem. Šī šūnu līnija palīdz noskaidrot daudzpusējās hepatokarcinogēzes ceļus un izstrādāt pretvēža terapijas, kas pielāgotas aknu vēža molekulārajam pamatam.

Organism

Cilvēks

Tissue

Aknas

Disease

Pieaugušo hepatocelulārā karcinoma

Synonyms

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

Raksturojums

Age

53 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Japāņu

Morphology

Epitēlijevīdīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

HUH-1 šūnas | 305553

Citation HUH-1 (Cytion kataloga numurs 305553)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2956

Biomolekulārie dati

Viruses Transformants: B hepatīta vīruss (HBV). Šūnas kultūras vidē nepārtraukti ražo HBs-antigēnu.**Mutational profile** Mutācija: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutācija: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homozigota

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar TrypLE Express, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HUH-1 šūnas | 305553

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

HUH-1 šūnas | 305553

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.