

Komórki HUH-1 | 305553

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HuH-1 pochodzi z ludzkiego raka wątrobowokomórkowego (HCC) i jest szeroko wykorzystywana w badaniach nad rakiem wątroby. Linia ta wykazuje zdolność do wytwarzania i wydzielania różnych białek specyficznych dla wątroby, w tym tych typowo występujących w ludzkim osoczu. Co ważne, komórki HuH-1, podobnie jak inne ludzkie linie komórkowe raka wątroby, mogą w hodowli wyrażać i uwalniać antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg), stanowiąc model do badania mechanizmów HCC związanych z wirusem zapalenia wątroby typu B. Zdolność do wytwarzania HBsAg w hodowli sugeruje, że komórki HuH-1 zachowują zróżnicowane funkcje podobne do tych, jakie pełnią komórki wątroby in vivo.

Komórki HuH-1 odgrywają również kluczową rolę w badaniu mechanizmów regulacyjnych w raku wątroby, zwłaszcza tych związanych z mikroRNA i ich celami. Na przykład badania wykazały, że zwiększona ekspresja miR-182 może wzmacniać potencjał przerzutowy komórek HCC, w tym HuH-1, poprzez obniżenie ekspresji supresora przerzutów 1 (MTSS1). Ta regulacja w dół sprzyja zachowaniom inwazyjnym i podkreśla rolę określonych mikroRNA w modulowaniu ekspresji genów oraz wpływie na zachowanie komórek nowotworowych. Takie spostrzeżenia są cenne dla zrozumienia progresji HCC oraz opracowywania ukierunkowanych strategii terapeutycznych.

Zastosowanie linii komórkowej HuH-1 rozciąga się na badania nad mikrośrodowiskiem guza i jego interakcjami z elementami wirusowymi, co czyni ją odpowiednim modelem do badania złożonych relacji między onkogenami, genami supresorowymi i białkami wirusowymi. Linia ta pomaga w wyjaśnieniu wieloaspektowych szlaków karcynogenezy wątroby oraz w opracowywaniu terapii przeciwnowotworowych dostosowanych do molekularnych uwarunkowań raka wątroby.

Organism

Człowiek

Tissue

Wątroba

Disease

Rak wątrobowokomórkowy u dorosłych

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

53 lata

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Japoński

Morphology

Podobny do nabłonka

Growth properties

Adherent

Komórki HUH-1 | 305553

Dane regulacyjne

Citation	HUH-1 (numer katalogowy Cytion 305553)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2956

Dane biomolekularne

Viruses	Transformant: wirus zapalenia wątroby typu B (HBV). Komórki te wytwarzają antygen HBs w sposób ciągły w pożywce hodowlanej.
Mutational profile	Mutacja: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutacja: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homozygotyczna

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki preparatem TrypLE Express, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut w celu ich odłączenia. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HUH-1 | 305553

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolkę w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki HUH-1 | 305553

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.