

Células HUH-1 | 305553

Informações gerais

Description

A linha celular HuH-1 é derivada de um carcinoma hepatocelular humano (CHC) e é amplamente utilizada na investigação do cancro do fígado. Esta linha celular demonstrou a capacidade de produzir e secretar várias proteínas específicas do fígado, incluindo aquelas normalmente encontradas no plasma humano. Notavelmente, as células HuH-1, tal como outras linhas celulares de hepatoma humano, podem expressar e libertar o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) em cultura, constituindo um modelo para o estudo dos mecanismos do HCC relacionados com o vírus da hepatite B. A capacidade de produzir HBsAg em cultura sugere que as células HuH-1 mantêm funções diferenciadas semelhantes às das células hepáticas in vivo.

As células HuH-1 são também fundamentais na investigação de mecanismos reguladores no cancro do fígado, particularmente aqueles que envolvem microARN e os seus alvos. Por exemplo, estudos demonstraram que a regulação positiva do miR-182 pode aumentar o potencial metastático das células do CHC, incluindo as HuH-1, através da regulação negativa do supressor de metástases 1 (MTSS1). Esta regulação negativa promove um comportamento invasivo e destaca o papel de microARN específicos na modulação da expressão génica e na influência do comportamento das células cancerosas. Tais conhecimentos são valiosos para compreender a progressão do CHC e desenvolver estratégias terapêuticas direcionadas.

A utilidade da linha celular HuH-1 estende-se à investigação sobre o microambiente tumoral e as suas interações com elementos virais, tornando-a um modelo adequado para explorar as relações complexas entre oncogenes, genes supressores e proteínas virais. Esta linha celular ajuda a elucidar as vias multifacetadas da hepatocarcinogénese e o desenvolvimento de terapias anticancerígenas adaptadas às bases moleculares do cancro do fígado.

Organism

Humano

Tissue

Fígado

Disease

Carcinoma hepatocelular do adulto

Synonyms

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

Caraterísticas

Age

53 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Japonês

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Células HUH-1 | 305553

Dados regulamentares

Citation	HUH-1 (número de catálogo da Cytion 305553)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2956

Dados biomoleculares

Viruses	Transformante: vírus da hepatite B (VHB). As células produzem o antígeno HBs de forma contínua no meio de cultura.
Mutational profile	Mutação: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutação: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homozigótica

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Para frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, para frascos T75, utilizar 5-10 ml. De seguida, cobrir completamente as células com TrypLE Express, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	2-4*10 ⁴ /cm ²
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HUH-1 | 305553

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Células HUH-1 | 305553

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.