

Células HuH-6 | 305092**Informações gerais****Description**

A linha celular HuH-6 é uma linha celular de hepatoblastoma humano derivada do tecido hepático de uma criança a quem foi diagnosticado hepatoblastoma, um tumor hepático maligno raro que afecta principalmente doentes pediátricos. As células HuH-6 apresentam características típicas da linhagem hepática, incluindo a expressão de marcadores associados aos hepatócitos, como a alfa-fetoproteína (AFP), a albumina e as citoqueratinas. Estas células são aderentes em cultura e apresentam morfologia epitelial, o que as torna um modelo in vitro valioso para o estudo do desenvolvimento do fígado, da patogénese do hepatoblastoma e das funções metabólicas específicas do fígado.

As células HuH-6 são particularmente úteis na investigação centrada nos cancros pediátricos do fígado, uma vez que mantêm muitas das características moleculares observadas nos tecidos primários do hepatoblastoma. Estas incluem a ativação da sinalização Wnt/ β -catenina, uma via frequentemente implicada na tumorigénese do hepatoblastoma. A linha celular também tem sido utilizada em estudos que investigam os efeitos dos agentes quimioterapêuticos, o metabolismo dos medicamentos e os mecanismos de resistência, bem como na exploração de perfis de expressão de genes associados à progressão e diferenciação do tumor. Devido à sua reprodutibilidade e características de crescimento consistentes, as células HuH-6 constituem um sistema modelo robusto tanto para a investigação básica do cancro do fígado como para o rastreio pré-clínico de medicamentos.

Organism Humano**Tissue** Fígado**Disease** Hepatoblastoma**Synonyms** HUH-6, HuH 6, HuH6, HUH6, Huh6**Caraterísticas****Age** 1 ano**Gender** Masculino**Ethnicity** Asiático**Morphology** Epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

Células HuH-6 | 305092

Citation HuH-6 (número de catálogo Cytion 305092)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4381

Dados biomoleculares

Manuseamento

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, 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. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, 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.

Split ratio 1:2 a 1:4

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

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-6 | 305092

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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

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.

Células HuH-6 | 305092

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.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

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 inspeções visuais diárias.

Perfil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,12
D16S539: 10,11
D5S818: 8,11
D7S820: 11,12
TH01: 7,8
TPOX: 8
vWA: 14,17
D3S1358: 14,17
D21S11: 29,3
D18S51: 13,21
Penta E: 11
Penta D: 9,13
D8S1179: 10,11
FGA: 19,24
D6S1043: 13,18
D2S1338: 18
D12S391: 18,2
D19S433: 12,12.2