

Bunky HUH-1 | 305553**Všeobecné informácie****Description**

Bunka HuH-1 pochádza z ľudského hepatocelulárneho karcinómu (HCC) a vo veľkej miere sa využíva vo výskume rakoviny pečene. Táto bunka preukázala schopnosť produkovať a vylučovať rôzne proteíny špecifické pre pečeň, vrátane tých, ktoré sa bežne vyskytujú v ľudskej plazme. Je potrebné poznamenať, že bunky HuH-1, podobne ako iné ľudské hepatómové bunkové línie, môžu v kultúre exprimovať a uvoľňovať povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg), čím poskytujú model na štúdium mechanizmov HCC súvisiacich s vírusom hepatitídy B. Schopnosť produkovať HBsAg v kultúre naznačuje, že bunky HuH-1 si zachovávajú diferencované funkcie podobné tým, aké majú pečeňové bunky in vivo.

Bunky HuH-1 zohrávajú kľúčovú úlohu aj pri skúmaní regulačných mechanizmov pri rakovine pečene, najmä tých, ktoré zahŕňajú mikroRNA a ich ciele. Štúdie napríklad preukázali, že zvýšená expresia miR-182 môže zvýšiť metastatický potenciál buniek HCC, vrátane buniek HuH-1, prostredníctvom zníženia expresie supresora metastáz 1 (MTSS1). Táto downregulácia podporuje invazívne správanie a zdôrazňuje úlohu špecifických mikroRNA pri modulácii génovej expresie a ovplyvňovaní správania rakovinových buniek. Takéto poznatky sú cenné pre pochopenie progresie HCC a vývoj cielených terapeutických stratégií.

Využitelnosť bunkovej línie HuH-1 sa rozširuje aj na výskum mikroprostredia nádoru a jeho interakcií s vírusovými prvkami, čo z nej robí vhodný model na skúmanie zložitých vzťahov medzi onkogénmi, supresorovými génmi a vírusovými proteínmi. Táto bunková línia pomáha objasniť mnohostranné dráhy hepatokarcinogenézy a vývoj protinádorových terapií prispôbených molekulárnym základom rakoviny pečene.

Organism

Ľudské

Tissue

Pečeň

Disease

Hepatocelulárny karcinóm u dospelých

Synonyms

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

Charakteristika**Age**

53 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Japonský

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherent

Bunky HUH-1 | 305553**Regulačné údaje**

Citation	HUH-1 (katalógové číslo Cytion 305553)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2956

Biomolekulárne údaje

Viruses	Transformant: vírus hepatitídy B (HBV). Bunky nepretržite produkujú HBs-antigén v kultivačnom médiu.
Mutational profile	Mutácia: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC); Mutácia: TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homozygotná

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne zakryte prípravkom TrypLE Express, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HUH-1 | 305553

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Bunky HUH-1 | 305553

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.