

Клітини HUH-1 | 305553

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія HuH-1 походить від гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК) людини і широко використовується в дослідженнях раку печінки. Ця клітинна лінія продемонструвала здатність синтезувати та секретувати різні печінкові білки, зокрема ті, що зазвичай містяться в плазмі крові людини. Слід зазначити, що клітини HuH-1, як і інші клітинні лінії гепатоми людини, можуть експресувати та виділяти поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) у культурі, що дає змогу використовувати їх як модель для вивчення механізмів розвитку ГЦК, пов'язаних із вірусом гепатиту В. Здатність продукувати HBsAg у культурі свідчить про те, що клітини HuH-1 зберігають диференційовані функції, подібні до функцій клітин печінки *in vivo*.

Клітини HuH-1 також відіграють важливу роль у дослідженні регуляторних механізмів раку печінки, зокрема тих, що пов'язані з мікроРНК та їхніми мішенями. Наприклад, дослідження показали, що підвищення експресії miR-182 може посилювати метастатичний потенціал клітин ГЦК, зокрема HuH-1, шляхом пригнічення експресії супресора метастазування 1 (MTSS1). Таке пригнічення сприяє інвазивній поведінці та підкреслює роль конкретних мікроРНК у модулюванні експресії генів та впливі на поведінку ракових клітин. Такі дані є цінними для розуміння прогресування ГЦК та розробки цільових терапевтичних стратегій.

Застосування клітинної лінії HuH-1 поширюється на дослідження мікросередовища пухлини та її взаємодій з вірусними елементами, що робить її придатною моделлю для вивчення складних взаємозв'язків між онкогенами, генами-супресорами та вірусними білками. Ця клітинна лінія допомагає з'ясувати багатогранні шляхи гепатокарциногенезу та розробки протиракових методів лікування, адаптованих до молекулярних основ раку печінки.

Organism	Людина
Tissue	Печінка
Disease	Гепатоцелюлярна карцинома дорослих
Synonyms	huH-1, HuH-1, huH 1, HuH1, HUh1, HUH1, huH1

Характеристики

Age	53 роки
Gender	Чоловік
Ethnicity	Японський
Morphology	Епітеліальноподібні

Клітини HUH-1 | 305553

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

HUH-1 (номер у каталозі Cytion 305553)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2956

Біомолекулярні дані

Viruses

Трансформант: вірус гепатиту В (HBV). Клітини безперервно продукують антиген HBs у культуральному середовищі.

Mutational profile

Мутація: AXIN1, p.Asn302Profs*111 (с.904_907delAACC); Мутація: TP53, p.Arg110Leu (с.329G>T), гомозиготна

Обробка

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Supplements

Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent

Аккутаза

Subculturing

Видалить старе середовище з прилиплених клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини TrypLE Express, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density

 $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$

Клітини HUH-1 | 305553

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Клітини HUH-1 | 305553

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.