

Cellules HUH-1 | 305553

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HuH-1 est issue d'un carcinome hépatocellulaire (CHC) humain et est largement utilisée dans la recherche sur le cancer du foie. Cette lignée cellulaire s'est révélée capable de produire et de sécréter diverses protéines spécifiques au foie, notamment celles que l'on trouve habituellement dans le plasma humain. Il convient notamment de noter que les cellules HuH-1, à l'instar d'autres lignées cellulaires d'hépatome humain, peuvent exprimer et libérer l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) en culture, ce qui en fait un modèle permettant d'étudier les mécanismes du CHC liés au virus de l'hépatite B. La capacité à produire l'HBsAg en culture suggère que les cellules HuH-1 conservent des fonctions différenciées similaires à celles des cellules hépatiques in vivo.

Les cellules HuH-1 jouent également un rôle essentiel dans l'étude des mécanismes de régulation du cancer du foie, en particulier ceux impliquant les microARN et leurs cibles. Par exemple, des études ont démontré que la surexpression de miR-182 peut renforcer le potentiel métastatique des cellules du CHC, y compris les cellules HuH-1, en régulant à la baisse le gène « metastasis suppressor 1 » (MTSS1). Cette régulation à la baisse favorise un comportement invasif et met en évidence le rôle de microARN spécifiques dans la modulation de l'expression génique et l'influence sur le comportement des cellules cancéreuses. Ces connaissances sont précieuses pour comprendre la progression du CHC et développer des stratégies thérapeutiques ciblées.

L'utilité de la lignée cellulaire HuH-1 s'étend à la recherche sur le microenvironnement tumoral et ses interactions avec des éléments viraux, ce qui en fait un modèle approprié pour explorer les relations complexes entre les oncogènes, les gènes suppresseurs et les protéines virales. Cette lignée cellulaire contribue à élucider les voies multiples de l'hépatocarcinogenèse et au développement de thérapies anticancéreuses adaptées aux fondements moléculaires du cancer du foie.

Organism Humain**Tissue** Foie**Disease** Carcinome hépatocellulaire de l'adulte**Synonyms** huH-1, HuH-1, huH 1, HuH1, HUH1, HUH1, huH1

Caractéristiques

Age 53 ans**Gender** Homme**Ethnicity** Japonais**Morphology** De type épithélial

Cellules HUH-1 | 305553

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Citation

HUH-1 (référence Cytion 305553)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2956

Données biomoléculaires

Viruses

Transformant : virus de l'hépatite B (VHB). Les cellules produisent l'antigène HBs de manière continue dans le milieu de culture.

Mutational profile

Mutation : AXIN1, p.Asn302Profs*111 (c.904_907delAACC) ; Mutation : TP53, p.Arg110Leu (c.329G>T), homozygote

Manipulation

Culture Medium

DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Supplements

Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utiliser 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec TrypLE Express, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Seeding density

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

Cellules HUH-1 | 305553

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HUH-1 | 305553

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.