

HUH-1-cellen | 305553

Algemene informatie

Description

De HuH-1-celijn is afgeleid van een humaan hepatocellulair carcinoom (HCC) en wordt op grote schaal gebruikt in onderzoek naar leverkanker. Deze cellijn heeft aangetoond dat ze in staat is om diverse leverspecifieke eiwitten te produceren en uit te scheiden, waaronder eiwitten die doorgaans in menselijk plasma worden aangetroffen. Opvallend is dat HuH-1-cellen, net als andere menselijke hepatomacellijnen, in kweek het hepatitis B-oppervlakteantigeen (HBsAg) tot expressie kunnen brengen en kunnen afgeven, waardoor ze een model vormen voor het bestuderen van HCC-mechanismen die verband houden met het hepatitis B-virus. Het vermogen om HBsAg in kweek te produceren, suggereert dat HuH-1-cellen gedifferentieerde functies behouden die vergelijkbaar zijn met die van levercellen in vivo.

HuH-1-cellen spelen ook een cruciale rol bij het onderzoek naar regulerende mechanismen bij leverkanker, met name die waarbij microRNA's en hun doelwitten betrokken zijn. Studies hebben bijvoorbeeld aangetoond dat een verhoogde expressie van miR-182 het metastatisch potentieel van HCC-cellen, waaronder HuH-1, kan versterken door metastase-suppressor 1 (MTSS1) te onderdrukken. Deze onderdrukking bevordert invasief gedrag en benadrukt de rol van specifieke microRNA's bij het moduleren van genexpressie en het beïnvloeden van het gedrag van kankercellen. Dergelijke inzichten zijn waardevol voor het begrijpen van de progressie van HCC en het ontwikkelen van gerichte therapeutische strategieën.

Het nut van de HuH-1-celijn strekt zich uit tot onderzoek naar de tumor-micro-omgeving en de interacties daarvan met virale elementen, waardoor deze een geschikt model is voor het verkennen van de ingewikkelde relaties tussen oncogenen, suppressorgenen en virale eiwitten. Deze cellijn helpt bij het ophelderen van de veelzijdige routes van hepatocarcinogenese en de ontwikkeling van antikankertherapieën die zijn afgestemd op de moleculaire basis van leverkanker.

Organism

Mens

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulair carcinoom bij volwassenen

Synonyms

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

Kenmerken

Age

53 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Japans

Morphology

Epitheelachtig

HUH-1-cellen | 305553

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

HUH-1 (Cytion-catalogusnummer 305553)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2956

Biomoleculaire gegevens

Viruses

Transformant: hepatitis B-virus (HBV). De cellen produceren continu HBs-antigeen in het kweekmedium.

Mutational profile

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

Omgaan met

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met TrypLE Express, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Meng de cellen na incubatie voorzichtig met 10 ml medium om ze te resuspenden en centrifugeer vervolgens gedurende 3 minuten bij 300xg. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Seeding density

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

HUH-1-cellen | 305553

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HUH-1-cellen | 305553

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.