

HuH7-Zellen | 300156

Allgemeine Informationen

Description

HuH-7-Zellen sind eine Art epithelialer, tumorigener Zelllinie, die ursprünglich 1982 aus einem Lebertumor eines 57-jährigen Japaners gewonnen wurde. Die aus einem menschlichen Hepatom gewonnene HuH-7-Zelllinie und ihre Derivate werden in der Forschung häufig als praktischer experimenteller Ersatz für primäre Hepatozyten verwendet. Insbesondere haben sie in der Hepatitis-C-Forschung eine wichtige Rolle gespielt und wurden als Wirtszellen für die In-vitro-Vermehrung des Virus verwendet. HuH-7-Zellen haben in der Hepatitis-C-Forschung eine entscheidende Rolle gespielt, insbesondere bei der Entwicklung von Medikamenten. Vor 2005 war es den Forschern nicht möglich, das Hepatitis-C-Virus im Labor zu kultivieren, was es schwierig machte, potenzielle Arzneimittelkandidaten gegen das Virus zu testen.

Mit der Einführung der HuH-7-Zelllinie änderte sich dies. Diese Zellen sind für die Replikation des Hepatitis-C-Virus sehr empfänglich, was sie für In-vitro-Tests ideal macht. Mit Hilfe der HuH-7-Zellen konnten die Forscher Wirkstoffkandidaten gegen im Labor gezüchtete Hepatitis C testen, was den Weg für die Entwicklung neuer Medikamente zur Bekämpfung des Virus ebnete. Im Gegensatz zu anderen etablierten menschlichen Hepatomzelllinien können HuH-7-Zellen in einem chemisch definierten Medium vermehrt werden, das anstelle von Serum Spuren von Selen enthält. Dies ermöglicht die systematische Untersuchung der In-vitro-Wirkungen verschiedener Verbindungen auf ihr Wachstum und ihren Stoffwechsel.

Organism	Menschen
Tissue	Leber
Disease	Hepatozelluläres Karzinom
Metastatic site	Hepatom
Synonyms	HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, Japanese Tissue Culture-39

Merkmale

Age	57 Jahre
Gender	Männlich
Ethnicity	Japanisch
Morphology	Epithelähnlich
Growth properties	Adhärent

HuH7-Zellen | 300156

Regulatorische Daten

Citation	HuH7 (Cytion Katalognummer 300156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336
Depositor	T. Lindl

Biomolekulare Daten

Tumorigenic	Ja, an nackten Mäusen.
Viruses	Negativ für HPV, HCV und HIV.

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 Stunden
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Es wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:6 empfohlen
Seeding density	1 bis 2 x 10 ⁴ Zellen/cm ² während der routinemäßigen Zellkultur

HuH7-Zellen | 300156

Fluid renewal Alle 3 Tage

Post-Thaw Recovery

Beginnen Sie die Kultur mit $2 \text{ bis } 3 \times 10^4$ Zellen/cm². Die Zellen erholen sich innerhalb von 24 bis 48 Stunden.

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

HuH7-Zellen | 300156

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11
D13S317: 10
D16S539: 10
D5S818: 12
D7S820: 11
TH01: 7
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 15
D21S11: 30
D18S51: 15
Penta E: 11
Penta D: 12
D8S1179: 14,15
FGA: 22,23
D1S1656: 16
D6S1043: 13,15
D2S1338: 19
D12S391: 20
D19S433: 13,14

HuH7-Zellen | 300156

HLA-Allele

- A*:** '11:01:01
- B*:** '54:01:01
- C*:** '01:02:01
- DRB1*:** '08:03:02
- DQA1*:** '01:03:01
- DQB1*:** '06:01:01
- DPB1*:** '02:01:02