

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 und eignen sich daher ideal für In-vitro-Tests. 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 Spuren von Selen anstelle von Serum enthält. Dies ermöglicht die systematische Untersuchung der In-vitro-Wirkungen verschiedener Substanzen auf ihr Wachstum und ihren Stoffwechsel.

Die meisten HuH-7-Zellen haben eine Chromosomenzahl zwischen 55 und 63 und wachsen in der Regel in 2D-Monolayern. Das Wachstumsmedium für HuH-7-Zellen sollte 2-3 Mal pro Woche oder je nach pH-Wert des Mediums erneuert werden, und die Zellkonfluenz sollte zwischen 30 und 90 % gehalten werden. Die Verdopplungszeit dieser Zellen beträgt 24 bis 50 Stunden. Im Vergleich zu HepG2-Zellen, die üblicherweise als Modell für die Untersuchung der Synthese und Sekretion von menschlichem apoB-100 verwendet werden, wurden Huh-7-Zellen als alternatives Modell gewählt, in der Annahme, dass sie in einigen Aspekten des Lipoprotein-Stoffwechsels, einschließlich der VLDL-Sekretion, überlegen sein würden. Es stellte sich jedoch heraus, dass Huh-7-Zellen keine Vorteile gegenüber HepG2-Zellen als allgemeines Modell des menschlichen ApoB100-Lipoprotein-Stoffwechsels bieten.

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

HuH7-Zellen | 300156

Ethnicity	Japanisch
Morphology	Epithelähnlich
Growth properties	Adhärent

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation	HuH7 (Cytion Katalognummer 300156)
Biosafety level	1
Depositor	T. Lindl

Expression / Mutation

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

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,1 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Medium supplements	Supplemente des Mediums mit 10% FBS
Passaging solution	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.

HuH7-Zellen | 300156

Split ratio Es wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:6 empfohlen

Seeding density 1 bis 2×10^4 Zellen/cm² bei routinemäßiger Zellkultur

Fluid renewal Alle 3 Tage

Freezing recovery Beginnen Sie die Kultur mit 2 bis 3×10^4 Zellen/cm². Die Zellen werden sich innerhalb von 24 bis 48 Stunden erholen.

Freeze medium CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

Handling of cryopreserved cultures

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 nachfolgenden 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 $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Sie können die Zentrifugation auch überspringen, aber das restliche Gefriermedium nach 24 Stunden entfernen.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten 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.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

HuH7-Zellen | 300156

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 profile

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

HLA-Allele

A*: 11:01:01
B*: 02:01:1900 06:01
C*: 01:02:01
DRB1*: 08:03:02
DQA1*: 01:03:01
DQB1*: 06:01:01
DPB1*: 02:01:02