

HepG2-cellen | 300198

Algemene informatie

Description

HepG2-cellen, een hepatoblastoomcellijn, zijn een hoeksteen in de biologische wetenschap, met name in het onderzoek naar leverkanker. De HepG2-celijn werd voor het eerst geïsoleerd in 1975 en aanvankelijk verkeerd geclassificeerd als hepatocellulair carcinoom. Later werd de oorsprong van de HepG2-celijn als hepatoblastoom erkend, waardoor jarenlange wetenschappelijke dubbelzinnigheid werd opgehelderd.

Menselijke levercellijnen zoals HepG2 worden vaak gebruikt als in vitro modellen voor primaire menselijke hepatocyten. Deze cellijnen bieden voordelen zoals onbepaalde proliferatie, stabiel fenotype, gemakkelijke toegankelijkheid en eenvoudige manipulatie. Ze vertonen echter een verminderde expressie van sommige metabolische functies in vergelijking met primaire hepatocyten. HepG2 cellen zijn afgeleid van hepatocellulair carcinoom, prolifereren snel en hebben een epitheliale morfologie, waarbij ze veel gespecialiseerde leverfuncties uitvoeren. Ondanks deze verschillen worden HepG2-cellen veel gebruikt bij het bestuderen van het metabolisme en de toxiciteit van geneesmiddelen, dankzij hun gelijkheid met hepatocellulaire carcinoom- en hepatoblastomacellen wat betreft het metabolisme van geneesmiddelen en transporteiwitten.

HepG2 is een menselijke leverkankercelijn die vaak wordt gebruikt in onderzoek, waaronder studies naar het metabolisme en de toxiciteit van geneesmiddelen. Een van de beperkingen van hepatoma HepG2-cellen is echter hun veranderde expressie van bepaalde leverspecifieke functies, waaronder de expressie van cytochroom P450-enzymen. Cytochroom P450 enzymen zijn essentieel voor het metabolisme van xenobiotica (lichaamsvreemde verbindingen zoals geneesmiddelen en kankerverwekkende stoffen) in de lever. De veranderde of verminderde expressie van deze enzymen in HepG2-cellen kan van invloed zijn op hun vermogen om het metabolisme en de eliminatie van xenobiotica, een kritisch aspect van de leverfunctie, nauwkeurig te modelleren.

De HepG2 celijn draagt, samen met andere hepatoma cellijnen zoals de Hep3B en humaan hepatoma HepaRG cellijnen, bij aan een breder begrip van humane levercarcinoom cellen. De celijn onderscheidt zich door zijn veelzijdigheid en is een optimale keuze voor het genereren van stabiele cellijnen, transfectiestudies, geneesmiddelenmetabolisme en hepatotoxiciteitsstudies. Bovendien is de HepG2 celijn cruciaal in een reeks toepassingen, van 3D celkweek tot high-throughput screening en toxicologie.

Organism

Mens

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulair carcinoom

Applications

Deze celijn is een optimale keuze voor transfectie. Verder bieden de HepG2 cellen een scala aan toepassingen, variërend van 3D celkweek en kankeronderzoek tot high-throughput screening en toxicologie.

Synonyms

HEP-G2, Hep G2, HEP G2, Hep-G2, HEPG2

Kenmerken

Age

15 jaar

HepG2-cellen | 300198

Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HepG2 (Cytion catalogusnummer 300198)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellSaurusAccession	CVCL_0027

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed	Insuline, insuline-achtige groeifactor II (IGF II)
Protein expression	P53-positief
Tumorigenic	Geen

Products Albumine, alfa-fetoproteïne (alfa-fetoproteïne), alfa1-zuurglycoproteïne (alfa-1-zuurglycoproteïne), alfa1-antitrypsine (alfa-1-antitrypsine), alfa1-antichymotrypsine, (alfa-1-antichymotrypsine), alfa2 HS-glycoproteïne (alfa-2-HS-glycoproteïne), alfa2-macroglobuline (alfa-2-macroglobuline), bètalipoproteïne (bèta-lipoproteïne), ceruloplasmine, C4- en C3-activator, fibrinogeen, haptoglobine, plasminogeen, retinolbindend eiwit (retinolbindingseiwit), transferrine

Karyotype Modaal aantal = 55 (bereik = 50 tot 60), heeft een herschikt chromosoom 1

Omgaan met

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabiele Glutamine, w: 1,0 mM natriumpyruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820600a)

HepG2-cellen | 300198

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 48 uur

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 Accutase, 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. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:6 wordt aanbevolen

Seeding density 2 tot 3×10^4 cellen/cm² tijdens routinematige kweek

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery Start de kweek met de volledige inhoud van de cryovial in 2xT25 celkweekflessen. De cellen herstellen zich binnen 48 tot 72 uur.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (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.

HepG2-cellen | 300198

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

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

Shipping Conditions

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

HepG2-cellen | 300198

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 / Genetisch profiel / HLA

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.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,11
D13S317: 9,13
D16S539: 12,13
D5S818: 11,13
D7S820: 10
TH01: 9
TPOX: 8,9
vWA: 17
D3S1358: 15,16
D21S11: 29,31
D18S51: 13,14
D8S1179: 15,16,17
FGA: 22,25
D2S1338: 19,20
D19S433: 15.2

HLA-allelen

A*: '02:01:01, '24:02:01
B*: '35:14:01, '51:08:01
C*: '04:01:01, '16:02:01
DRB1*: '13:02:01, '16:02:01
DQA1*: '01:02:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01, '06:04
DPB1*: '02:01:02, '04:02:01
E: '01:01:01