

HuH7-celler | 300156

Generell informasjon

Description

HuH-7-celler er en type epitellignende, tumorigen cellelinje som opprinnelig ble tatt fra en leversvulst hos en 57 år gammel japansk mann i 1982. HuH-7-cellelinjen og dens derivater har vært mye brukt i forskning som en praktisk eksperimentell erstatning for primære hepatocytter. De har særlig vært viktige i hepatitt C-forskning og har blitt brukt som vertsceller for å oppformere viruset in vitro. HuH-7-celler har spilt en avgjørende rolle i hepatitt C-forskningen, særlig når det gjelder utvikling av legemidler. Før 2005 kunne forskerne ikke dyrke hepatitt C-viruset i laboratoriet, noe som gjorde det vanskelig å teste potensielle legemiddelkandidater mot det.

Introduksjonen av HuH-7-cellelinjen endret på dette. Disse cellene er svært tolerante overfor replikasjon av hepatitt C-viruset, noe som gjør dem ideelle for in vitro-testing. Ved å bruke HuH-7-cellene kunne forskerne screene legemiddelkandidater mot laboratoriedyrket hepatitt C, noe som banet vei for utviklingen av nye legemidler mot viruset. I motsetning til andre etablerte humane hepatomcellelinjer kan HuH-7-celler dyrkes i et kjemisk definert medium som inneholder spor av selen i stedet for serum. Dette muliggjør systematiske studier av in vitro-effektene av ulike forbindelser på vekst og metabolisme.

Organism

Menneskelig

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulært karsinom

Metastatic site

Hepatom

Synonyms

HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, Japanese Tissue Culture-39

Kjennetegn

Age

57 år

Gender

Mann

Ethnicity

Japansk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HuH7 (Cytion-katalognummer 300156)

HuH7-celler | 300156

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336
Depositor	T. Lindl

Biomolekylære data

Tumorigenic	Ja, i nakne mus.
Viruses	Negativ for HPV, HCV og HIV.

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:4 til 1:6 anbefales
Seeding density	1 til 2×10^4 celler/cm ² under rutinemessig cellekultur
Fluid renewal	Hver tredje dag
Post-Thaw Recovery	Start kulturen med 2 til 3×10^4 celler/cm ² . Cellene vil komme seg innen 24 til 48 timer.

HuH7-celler | 300156**Freeze medium**

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HuH7-celler | 300156

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellerlinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekyllær analyse**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

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

HLA-alleler

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