

Células HuH7 | 300156**Informações gerais****Description**

As células HuH-7 são um tipo de linha celular tumorigénica de tipo epitelial, inicialmente retirada de um tumor hepático de um homem japonês de 57 anos em 1982. A linha celular HuH-7 derivada do hepatoma humano e os seus derivados têm sido amplamente utilizados na investigação como um substituto experimental conveniente para os hepatócitos primários. Em particular, têm sido fundamentais na investigação da hepatite C e utilizadas como células hospedeiras para a propagação do vírus in vitro. As células HuH-7 têm desempenhado um papel crucial na investigação da hepatite C, especialmente no que diz respeito ao desenvolvimento de medicamentos. Antes de 2005, os investigadores não conseguiam cultivar o vírus da hepatite C em laboratório, o que dificultava o teste de potenciais candidatos a medicamentos contra o mesmo.

A introdução da linha de células HuH-7 veio alterar essa situação. Estas células são altamente permissivas à replicação do vírus da hepatite C, o que as torna ideais para testes in vitro. Ao utilizarem as células HuH-7, os investigadores puderam analisar candidatos a medicamentos contra a hepatite C cultivados em laboratório, o que abriu caminho para o desenvolvimento de novos medicamentos para combater o vírus. Ao contrário de outras linhas celulares de hepatoma humano estabelecidas, as células HuH-7 podem ser propagadas num meio quimicamente definido que contém vestígios de selénio em vez de soro. Este facto permite estudos sistemáticos dos efeitos in vitro de vários compostos no seu crescimento e metabolismo.

Organism

Humano

Tissue

Fígado

Disease

Carcinoma hepatocelular

Metastatic site

Hepatoma

Synonyms

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

Caraterísticas**Age**

57 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Japonês

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Células HuH7 | 300156**Dados regulamentares**

Citation	HuH7 (número de catálogo Cytion 300156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336

Dados biomoleculares

Tumorigenic	Sim, em ratinhos nus.
Viruses	Negativo para HPV, HCV e VIH.

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820700a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 horas
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	1 a 2×10^4 células/cm ² durante a cultura celular de rotina
Fluid renewal	A cada 3 dias
Post-Thaw Recovery	Inicie a cultura utilizando $2 \text{ a } 3 \times 10^4$ células/cm ² . As células recuperarão dentro de 24 a 48 horas.

Células HuH7 | 300156**Freeze medium**

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células HuH7 | 300156**Freezing Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Alelos HLA

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