

Cellule HuH7 | 300156

Informazioni generali

Description

Le cellule HuH-7 sono un tipo di linea cellulare tumorale di tipo epiteliale, inizialmente prelevata da un tumore al fegato di un uomo giapponese di 57 anni nel 1982. La linea cellulare HuH-7 derivata da epatoma umano e i suoi derivati sono stati ampiamente utilizzati nella ricerca come comodo sostituto sperimentale degli epatociti primari. In particolare, sono state fondamentali nella ricerca sull'epatite C e utilizzate come cellule ospiti per la propagazione del virus in vitro. Le cellule HuH-7 hanno svolto un ruolo cruciale nella ricerca sull'epatite C, soprattutto per quanto riguarda lo sviluppo di farmaci. Prima del 2005, i ricercatori non erano in grado di coltivare il virus dell'epatite C in laboratorio, il che rendeva difficile testare potenziali farmaci contro di esso.

L'introduzione della linea cellulare HuH-7 ha cambiato le cose. Queste cellule sono altamente permissive alla replicazione del virus dell'epatite C, il che le rende ideali per i test in vitro. Utilizzando le cellule HuH-7, i ricercatori sono stati in grado di esaminare i candidati farmaci contro l'epatite C coltivata in laboratorio, aprendo così la strada allo sviluppo di nuovi farmaci per combattere il virus. A differenza di altre linee cellulari di epatoma umano consolidate, le cellule HuH-7 possono essere propagate in un terreno chimicamente definito contenente tracce di selenio al posto del siero. Ciò consente di studiare sistematicamente gli effetti in vitro di vari composti sulla loro crescita e sul loro metabolismo.

Organism

Umano

Tissue

Fegato

Disease

Carcinoma epatocellulare

Metastatic site

Epatoma

Synonyms

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

Caratteristiche

Age

57 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Giapponese

Morphology

Simile all'epitelio

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Cellule HuH7 | 300156

Citation	HuH7 (numero di catalogo Cytion 300156)
----------	---

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0336
----------------------	-----------

Depositor	T. Lindl
-----------	----------

Dati biomolecolari

Tumorigenic	Sì, in topi nudi.
-------------	-------------------

Viruses	Negativo per HPV, HCV e HIV.
---------	------------------------------

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
----------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
-------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Doubling time	48 ore
---------------	--------

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
--------------	---

Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:4 a 1:6
-------------	---------------------------------------

Seeding density	Da 1 a 2×10^4 cellule/cm ² durante la coltura cellulare di routine
-----------------	--

Fluid renewal	Ogni 3 giorni
---------------	---------------

Cellule HuH7 | 300156

Post-Thaw Recovery

Avviare la coltura utilizzando $2-3 \times 10^4$ cellule/cm². Le cellule si riprenderanno entro 24-48 ore.

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Cellule HuH7 | 300156**Freezing
Procedure**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Shipping
Conditions**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Storage
Conditions**

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA**Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

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

Cellule HuH7 | 300156

Alleli 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