

HuH7-cellen | 300156

Algemene informatie

Description

HuH-7 cellen zijn een soort epitheliale, tumorigene cellijn die oorspronkelijk in 1982 werd genomen van een levertumor bij een 57-jarige Japanse man. De van humaan hepatoom afgeleide HuH-7 cellijn en zijn derivaten zijn op grote schaal gebruikt in onderzoek als een geschikt experimenteel substituuut voor primaire hepatocyten. Ze zijn met name van belang geweest bij onderzoek naar hepatitis C en zijn gebruikt als gastheercellen voor de vermeerdering van het virus in vitro. HuH-7 cellen hebben een cruciale rol gespeeld in het hepatitis C onderzoek, vooral als het gaat om de ontwikkeling van medicijnen. Vóór 2005 waren onderzoekers niet in staat om het hepatitis C-virus in het laboratorium te kweken, waardoor het moeilijk was om potentiële kandidaat-geneesmiddelen ertegen te testen.

De introductie van de HuH-7 cellijn veranderde dat. Deze cellen zijn zeer tolerant voor de replicatie van het hepatitis C-virus, waardoor ze ideaal zijn voor in vitro testen. Door gebruik te maken van de HuH-7 cellen konden onderzoekers kandidaat-geneesmiddelen screenen tegen in het laboratorium gekweekte hepatitis C, wat de weg vrijmaakte voor de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen om het virus te bestrijden. In tegenstelling tot andere gevestigde menselijke hepatomacellijnen kunnen HuH-7 cellen worden gekweekt in een chemisch gedefinieerd medium dat sporen van selenium bevat in plaats van serum. Hierdoor kunnen de in vitro effecten van verschillende stoffen op hun groei en metabolisme systematisch worden bestudeerd.

Organism

Mens

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulair carcinoom

Metastatic site

Hepatoom

Synonyms

HuH-7, HUH-7, Huh-7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, Japanse weefselkweek-39

Kenmerken

Age

57 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Japans

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

HuH7-cellen | 300156

Regelgevende gegevens

Citation	HuH7 (Cytion catalogusnummer 300156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336
Depositor	T. Lindl

Biomoleculaire gegevens

Tumorigenic	Ja, in naakte muizen.
Viruses	Negatief voor HPV, HCV en HIV.

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
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 resuspenderen en vervolgens centrifugeren 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	1 tot 2×10^4 cellen/cm ² tijdens routinematige celkweek

HuH7-cellen | 300156

Fluid renewal Om de 3 dagen

Post-Thaw Recovery Start de kweek met $2 \text{ tot } 3 \times 10^4$ cellen/cm². De cellen zullen binnen 24 tot 48 uur herstellen.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (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.

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 °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 °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 x 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°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

HuH7-cellen | 300156

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

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

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.

HuH7-cellen | 300156

STR profiel

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-allelen

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