

Células HuH7 | 300156

Informações gerais

Description

As células HuH-7 são um tipo de linha celular tumorigênica 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 esse vírus.

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. Isto 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 NaHCO₃ (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/cm² durante a cultura celular de rotina**Fluid renewal** A cada 3 dias**Post-Thaw Recovery** Inicie a cultura utilizando 2 a 3×10^4 células/cm². 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%_{CO2}, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

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 / Perfil genético / HLA**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