

HuH7 rakud | 300156

Üldine teave

Description

HuH-7 rakud on teatud tüüpi epiteelilaadne, kasvajaline rakuliin, mis võeti algselt 1982. aastal 57-aastase jaapani mehe maksakasvajast. Inimese hepatoomist saadud HuH-7 rakuliini ja selle derivaate on teadusuuringutes laialdaselt kasutatud primaarsete hepatotsüütide mugava eksperimentaalse asendajana. Eelkõige on need olnud olulised C-hepatiidi uurimisel ja neid on kasutatud peremeesrakkudena viiruse in vitro paljundamisel. HuH-7 rakud on mänginud olulist rolli C-hepatiidi uuringutes, eriti ravimite väljatöötamisel. Enne 2005. aastat ei olnud teadlastel võimalik C-hepatiidi viirust laboris kasvatada, mis raskendas potentsiaalsete ravimikandidaatide testimist selle vastu.

HuH-7 rakuliini kasutuselevõtt muutis seda. Need rakud on C-hepatiidi viiruse paljunemise suhtes väga tolerantid, mistõttu on nad ideaalsed in vitro testimiseks. HuH-7 rakke kasutades suutsid teadlased sõeluda ravimikandidaate laboris kasvatatud C-hepatiidi vastu, mis sillutas teed uute ravimite väljatöötamisele viiruse vastu võitlemiseks. Erinevalt teistest väljakujunenud inimese hepatoomi rakuliinidest saab HuH-7 rakke paljundada keemiliselt määratletud keskkonnas, mis sisaldab seerumi asemel jälgi seleenist. See võimaldab süstemaatiliselt uurida erinevate ühendite in vitro mõju nende kasvule ja ainevahetusele.

Organism

Inimene

Tissue

Maksa

Disease

Hepatotsellulaarne kartsinoom

Metastatic site

Hepatoom

Synonyms

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

Omadused

Age

57 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Jaapani

Morphology

Epiteelilaadsed

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

HuH7 rakud | 300156

Citation HuH7 (Cytioni katalooginumber 300156)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0336

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel.**Viruses** Negatiivne HPV, HCV ja HIV suhtes.

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1 kuni 2×10^4 rakku/cm² tavalise rakukultuuri puhul**Fluid renewal** Iga 3 päeva tagant**Post-Thaw Recovery** Alustage kultuuri kasvatamist, kasutades $2-3 \times 10^4$ rakku/cm². Rakud taastuvad 24-48 tunni jooksul.

HuH7 rakud | 300156

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HuH7 rakud | 300156

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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