

HuH7-solut | 300156

Yleisiä tietoja

Description

HuH-7-solut ovat eräänlainen epiteelin kaltainen kasvainsolulinja, joka otettiin alun perin 57-vuotiaan japanilaisen miehen maksakasvaimesta vuonna 1982. Ihmisen hepatoomasta peräisin olevaa HuH-7-solulinjaa ja sen johdannaisia on käytetty laajalti tutkimuksessa primaaristen hepatosyyttien kätevästä kokeellisesta korvikkeena. Erityisesti ne ovat olleet tärkeitä C-hepatiittitutkimuksessa, ja niitä on käytetty isäntäsoluina viruksen in vitro -lisäykseen. HuH-7-soluilla on ollut ratkaiseva rooli C-hepatiittitutkimuksessa, erityisesti lääkekehityksessä. Ennen vuotta 2005 tutkijat eivät voineet viljellä C-hepatiittivirusta laboratoriossa, mikä vaikeutti mahdollisten lääkeaihioiden testaamista sitä vastaan.

HuH-7-solulinjan käyttöönotto muutti tämän. Nämä solut ovat erittäin sallivia C-hepatiittiviruksen lisääntymiselle, joten ne soveltuvat erinomaisesti in vitro -testaukseen. HuH-7-soluja käyttämällä tutkijat pystyivät seulomaan lääkeaihoita laboratoriossa kasvatettua C-hepatiittia vastaan, mikä avasi tietä uusien lääkkeiden kehittämiseksi virusta vastaan. Toisin kuin muita vakiintuneita ihmisen hepatoomasolulinjoja, HuH-7-soluja voidaan kasvattaa kemiallisesti määritellyssä väliaineessa, joka sisältää seerumin sijasta pieniä määriä seleeniä. Tämä mahdollistaa järjestelmälliset tutkimukset eri yhdisteiden in vitro -vaikutuksista niiden kasvuun ja aineenvaihduntaan.

Organism

Ihminen

Tissue

Maksa

Disease

Hepatosellulaarinen karsinooma

Metastatic site

Hepatooma

Synonyms

HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, Japanilainen kudostiljely-39

Ominaisuudet

Age

57 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Japanilainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

HuH7-solut | 300156

Citation HuH7 (Cytionin luettelonumero 300156)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0336

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä.**Viruses** Negatiivinen HPV:n, HCV:n ja HIV:n suhteen.

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 tuntia**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 1–2 x 10⁴ solua/cm² rutiinisoluviijelmässä**Fluid renewal** 3 päivän välein**Post-Thaw Recovery** Aloita viljely käyttämällä 2–3 x 10⁴ solua/cm². Solut palautuvat 24–48 tunnin kuluessa.

HuH7-solut | 300156

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

HuH7-solut | 300156

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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