

HuH7 ląstelės | 300156

Bendra informacija

Description

HuH-7 ląstelės - tai epitelio tipo navikinių ląstelių linija, iš pradžių paimta 1982 m. iš 57 metų japono kepenų naviko. Žmogaus hepatomos HuH-7 ląstelių linija ir jos dariniai plačiai naudojami moksliniuose tyrimuose kaip patogus eksperimentinis pirminių hepatocitų pakaitalas. Ypač jos padėjo atlikti hepatito C tyrimus ir buvo naudojamos kaip ląstelės šeimininkės virusui dauginti in vitro. HuH-7 ląstelės atliko labai svarbų vaidmenį hepatito C tyrimuose, ypač kuriant vaistus. Iki 2005 m. mokslininkai negalėjo laboratorijoje auginti hepatito C viruso, todėl buvo sunku išbandyti galimus vaistus nuo jo.

HuH-7 ląstelių linija pakeitė šią situaciją. Šios ląstelės yra labai tolerantiškos hepatito C viruso replikacijai, todėl idealiai tinka in vitro bandymams. Naudodami HuH-7 ląsteles, mokslininkai galėjo patikrinti kandidatus į vaistus nuo laboratorijoje užauginto hepatito C, o tai atvėrė kelią naujų vaistų nuo šio viruso kūrimui. Skirtingai nuo kitų sukurtų žmogaus hepatomos ląstelių linijų, HuH-7 ląsteles galima dauginti chemiškai apibrėžtoje terpėje, kurioje vietoj serumo yra pėdsakiniai seleno kiekiai. Tai leidžia sistemingai tirti įvairių junginių poveikį jų augimui ir metabolizmui in vitro.

Organism

Žmogus

Tissue

Kepenys

Disease

Hepatocelulinė karcinoma

Metastatic site

Hepatoma

Synonyms

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

Charakteristikos

Age

57 metai

Gender

Vyras

Ethnicity

Japonų

Morphology

Į epitelį panašus

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

HuH7 (Cytion katalogo numeris 300156)

HuH7 ląstelės | 300156

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0336

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic Taip, nuogoms pelėms.

Viruses ŽPV, HCV ir ŽIV testai neigiami.

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 48 valandos

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density $1-2 \times 10^4$ ląstelės/cm² įprastinės ląstelių kultūros metu**Fluid renewal** Kas 3 dienas**Post-Thaw Recovery** Pradėkite kultūrą naudodami $2-3 \times 10^4$ ląsteles/cm². Ląstelės atsigaus per 24-48 valandas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HuH7 ląstelės | 300156

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HuH7 ląstelės | 300156**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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