

HuH7 šūnas | 300156

Vispārīga informācija

Description

HuH-7 šūnas ir epitēlijveidīga, audzējiem līdzīga šūnu līnija, kas sākotnēji tika iegūta no aknu audzēja 57 gadus vecam japāņu vīrietim 1982. gadā. No cilvēka hepatomas iegūtā HuH-7 šūnu līnija un tās atvasinājumi ir plaši izmantoti pētniecībā kā ērts eksperimentāls primāro hepatocītu aizstājējs. Jo īpaši tās ir bijušas noderīgas C hepatīta pētījumos un izmantotas kā saimnieka šūnas vīrusa pavairošanai in vitro. HuH-7 šūnām ir bijusi izšķiroša nozīme C hepatīta pētniecībā, jo īpaši zāļu izstrādē. Līdz 2005. gadam pētnieki nevarēja kultivēt C hepatīta vīrusu laboratorijā, kas apgrūtināja potenciālo zāļu kandidātu testēšanu pret to.

HuH-7 šūnu līnijas ieviešana to mainīja. Šīs šūnas ir ļoti uzņēmīgas pret C hepatīta vīrusa replikāciju, tāpēc tās ir ideāli piemērotas in vitro testēšanai. Izmantojot HuH-7 šūnas, pētnieki varēja pārbaudīt zāļu kandidātus pret laboratorijā audzētu C hepatītu, kas pavēra ceļu jaunu zāļu izstrādei cīņai ar šo vīrusu. Atšķirībā no citām izveidotajām cilvēka hepatomas šūnu līnijām HuH-7 šūnas var pavairot ķīmiski definētā barotnē, kas serumā vietā satur nelielus selēna daudzumus. Tas ļauj sistemātiski pētīt dažādu savienojumu in vitro ietekmi uz to augšanu un metabolismu.

Organism

Cilvēks

Tissue

Aknas

Disease

Hepatocelulārā karcinoma

Metastatic site

Hepatoma

Synonyms

HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, Japānas audu kultūra-39

Raksturojums

Age

57 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Japāņu

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

HuH7 (Cytion kataloga numurs 300156)

HuH7 šūnas | 300156

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Jā, kailām pelēm.
Viruses	Negatīvs rezultāts attiecībā uz HPV, HCV un HIV.

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 stundas
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1 līdz 2×10^4 šūnas/cm ² rutīniskā šūnu kultūrā
Fluid renewal	Ik pēc 3 dienām
Post-Thaw Recovery	Sāciet kultivēšanu, izmantojot 2 līdz 3×10^4 šūnas/cm ² . Šūnas atjaunosies 24 līdz 48 stundu laikā.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HuH7 šūnas | 300156

Thawing and
Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation
Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing
Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HuH7 šūnas | 300156

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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