

Komórki HuH7 | 300156

Informacje ogólne

Description

Komórki HuH-7 są typem nabłonkowej, nowotworowej linii komórkowej, pierwotnie pobranej z guza wątroby u 57-letniego Japończyka w 1982 roku. Pochodząca z ludzkiego wątrobiaka linia komórkowa HuH-7 i jej pochodne były szeroko stosowane w badaniach jako wygodny eksperymentalny substytut pierwotnych hepatocytów. W szczególności odegrały one kluczową rolę w badaniach nad wirusowym zapaleniem wątroby typu C i były wykorzystywane jako komórki gospodarza do namnażania wirusa in vitro. Komórki HuH-7 odegrały kluczową rolę w badaniach nad wirusowym zapaleniem wątroby typu C, zwłaszcza jeśli chodzi o opracowywanie leków. Przed 2005 rokiem naukowcy nie byli w stanie hodować wirusa zapalenia wątroby typu C w laboratorium, co utrudniało testowanie potencjalnych kandydatów na leki przeciwko niemu.

Wprowadzenie linii komórkowej HuH-7 zmieniło ten stan rzeczy. Komórki te są wysoce podatne na replikację wirusa zapalenia wątroby typu C, co czyni je idealnymi do testów in vitro. Wykorzystując komórki HuH-7, naukowcy byli w stanie badać kandydatów na leki przeciwko laboratoryjnie wyhodowanemu wirusowi zapalenia wątroby typu C, co utorowało drogę do opracowania nowych leków zwalczających wirusa. W przeciwieństwie do innych uznanych linii komórkowych ludzkiego wątrobiaka, komórki HuH-7 mogą być rozmnażane w chemicznie zdefiniowanej pożywce zawierającej śladowe ilości selenu zamiast surowicy. Pozwala to na systematyczne badania wpływu in vitro różnych związków na ich wzrost i metabolizm.

Organism

Człowiek

Tissue

Wątroba

Disease

Rak wątrobowokomórkowy

Metastatic site

Wątrobiak

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

57 lat

Gender

Męczyzna

Ethnicity

Japoński

Morphology

Podobny do nabłonka

Growth properties

Adherent

Komórki HuH7 | 300156

Dane regulacyjne

Citation	HuH7 (numer katalogowy Cytion 300156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336
Depositor	T. Lindl

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak, u nagich myszy.
Viruses	Ujemny wynik testów na HPV, HCV i HIV.

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:6
Seeding density	1 do 2×10^4 komórek/cm ² podczas rutynowej hodowli komórkowej

Komórki HuH7 | 300156**Fluid renewal** Co 3 dni**Post-Thaw Recovery** Rozpocznij hodowlę, stosując 2 do 3×10^4 komórek/cm². Komórki odzyskują żywotność w ciągu 24 do 48 godzin.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Komórki HuH7 | 300156

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki HuH7 | 300156

Profil STR	Amelogenin: x,x CSF1PO: 11 D13S317: 10 D16S539: 10 D5S818: 12 D7S820: 11 TH01: 7 TPOX: 8,11 vWA: 18 D3S1358: 15 D21S11: 30 D18S51: 15 Penta E: 11 Penta D: 12 D8S1179: 14,15 FGA: 22,23 D1S1656: 16 D6S1043: 13,15 D2S1338: 19 D12S391: 20 D19S433: 13,14
-------------------	--

Allele 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
-------------------	--