

Bunky HuH7 | 300156

Všeobecné informácie

Description

Bunky HuH-7 sú typom epiteliálnej, nádorovej bunkovej línie, ktorá bola pôvodne odobratá z nádoru pečene 57-ročného Japonca v roku 1982. Bunková línia HuH-7 odvodená od ľudského hepatómu a jej deriváty sa široko používajú vo výskume ako vhodná experimentálna náhrada primárnych hepatocytov. Najmä vo výskume hepatitídy C boli veľmi dôležité a používali sa ako hostiteľské bunky na rozmnožovanie vírusu in vitro. Bunky HuH-7 zohrávajú kľúčovú úlohu vo výskume hepatitídy C, najmä pokiaľ ide o vývoj liekov. Pred rokom 2005 výskumníci nemohli kultivovať vírus hepatitídy C v laboratóriu, čo sťažovalo testovanie potenciálnych kandidátov na lieky proti nemu.

Zavedenie bunkovej línie HuH-7 to zmenilo. Tieto bunky sú veľmi tolerantné voči replikácii vírusu hepatitídy C, čo z nich robí ideálne bunky na testovanie in vitro. Pomocou buniek HuH-7 mohli výskumníci testovať kandidátske lieky proti laboratórne vypestovanej hepatitíde C, čo otvorilo cestu k vývoju nových liekov na boj proti tomuto vírusu. Na rozdiel od iných zavedených bunkových línií ľudského hepatómu sa bunky HuH-7 môžu množiť v chemicky definovanom médiu obsahujúcom stopové množstvá selénu namiesto séra. To umožňuje systematické štúdie in vitro účinkov rôznych zlúčenín na ich rast a metabolizmus.

Organism

Ľudské

Tissue

Pečeň

Disease

Hepatocelulárny karcinóm

Metastatic site

Hepatóm

Synonyms

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

Charakteristika

Age

57 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Japonský

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Bunky HuH7 | 300156**Citation** HuH7 (katalógové číslo Cytion 300156)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0336**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach.**Viruses** Negatívne na HPV, HCV a HIV.**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 hodín

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 1 až 2 x 10⁴ buniek/cm² počas bežnej kultivácie buniek**Fluid renewal** Každé 3 dni**Post-Thaw Recovery** Začnite kultiváciu s použitím 2 až 3 x 10⁴ buniek/cm². Bunky sa zotavia do 24 až 48 hodín.

Bunky HuH7 | 300156

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Bunky HuH7 | 300156

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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