Product sheet

Клетки HuH7 | 300156

Обща информация

Description	Клетките HuH-7 са вид епителноподобна туморогенна клетъчна линия, първоначално взета от чернодробен тумор на 57-годишен японец през 1982 г. Клетъчната линия HuH-7, получена от човешки хепатом, и нейните производни са широко използвани в научните изследвания като удобен експериментален заместител на първичните хепатоцити. По-специално, те са от съществено значение за изследванията на хепатит С и се използват като клетки-гостоприемници за размножаване на вируса in vitro. Клетките HuH-7 са изиграли решаваща роля в изследванията на хепатит С, особено когато става въпрос за разработване на лекарства. Преди 2005 г. изследователите не са могли да култивират вируса на хепатит С в лаборатория, което е затруднявало тестването на потенциални кандидати за лекарства срещу него. Въвеждането на клетъчната линия HuH-7 промени това. Тези клетки са изключително възприемчиви към репликацията на вируса на хепатит С, което ги прави идеални за in vitro тестове. Използвайки клетките HuH-7, изследователите успяха да направят скрининг на кандидати за лекарства срещу лабораторно отгледан хепатит С, което проправи пътя за разработването на нови лекарства за борба с вируса. За разлика от други установени човешки хепатомни клетъчни линии, клетките HuH-7 могат да се размножават в химически определена среда, съдържаща следи от селен вместо серум. Това дава възможност за систематични изследвания на in vitro ефектите на различни съединения върху техния растеж и метаболизъм.
Organism	Човек
Tissue	Черен дроб
Disease	Хепатоцелуларен карцином
Metastatic site	Хепатом
Synonyms	HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, Japanese Tissue Culture-39

Характеристики

Age	57 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Японски
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържащи се

Product sheet

Клетки HuH7 | 300156

Регулаторни данни

Citation	HuH7 (каталожен номер 300156 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Да, при голи мишки.
Viruses	Отрицателни за HPV, HCV и HIV.

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 до 2 x 10^4 клетки/cm^2 по време на рутинна клетъчна култура
Fluid renewal	На всеки 3 дни

Клетки HuH7 | 300156

Post-Thaw Recovery	Започнете култивирането, като използвате 2 до 3 x 10^4 клетки/cm^2. Клетките ще се възстановят в рамките на 24 до 48 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Клетки HuH7 | 300156

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**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