Product sheet

Buňky HuH7 | 300156

Obecné informace

Description	Buňky HuH-7 jsou typem epiteliální nádorové buněčné linie, která byla původně odebrána z nádoru jater 57letého Japonce v roce 1982. Buněčná linie HuH-7 odvozená z lidského hepatomu a její deriváty se široce používají ve výzkumu jako vhodná experimentální náhrada primárních hepatocytů. Zejména se uplatnily ve výzkumu hepatitidy C a jako hostitelské buňky pro množení viru in vitro. Buňky HuH-7 sehrály klíčovou roli ve výzkumu hepatitidy C, zejména pokud jde o vývoj léků. Před rokem 2005 nebyli vědci schopni kultivovat virus hepatitidy C v laboratoři, což ztěžovalo testování potenciálních kandidátů na léky proti němu. Zavedení buněčné linie HuH-7 to změnilo. Tyto buňky jsou vysoce tolerantní k replikaci viru hepatitidy C, což je činí ideálními pro testování in vitro. Pomocí buněk HuH-7 mohli vědci provádět screening kandidátů na léky proti laboratorně vypěstované hepatitidě C, což otevřelo cestu k vývoji nových léků proti tomuto viru. Na rozdíl od jiných zavedených buněčných linií lidského hepatomu lze buňky HuH-7 množit v chemicky definovaném médiu obsahujícím místo séra stopové množství selenu. To umožňuje systematické studie in vitro účinků různých sloučenin na jejich růst a metabolismus.
Organism	Člověk
Tissue	Játra
Disease	Hepatocelulární karcinom
Metastatic site	Hepatom
Synonyms	HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, Japanese Tissue Culture-39

Charakteristika

Age	57 let
Gender	Muži
Ethnicity	Japonský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	HuH7 (katalogové číslo Cytion 300156)

Product sheet

Buňky HuH7 | 300156

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336
Depositor	T. Lindl

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano, na nahých myších.
Viruses	Negativní na HPV, HCV a HIV.

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:4 až 1:6
Seeding density	1 až 2 x 10^4 buněk/cm^2 během rutinní buněčné kultury
Fluid renewal	Každé 3 dny
Post-Thaw Recovery	Kultivaci zahajte s použitím 2 až 3 x 10^4 buněk/cm^2. Buňky se zotaví během 24 až 48 hodin.

Buňky HuH7 | 300156

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HuH7 | 300156

Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
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
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