Product sheet

Κύτταρα HuH7 | 300156

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα HuH-7 είναι ένας τύπος επιθηλιοειδούς, καρκινικής κυτταρικής σειράς που αρχικά ελήφθη από έναν όγκο στο ήπαρ ενός 57χρονου Ιάπωνα το 1982. Η κυτταρική σειρά HuH-7 που προέρχεται από ανθρώπινο ηπάτωμα και τα παράγωγά της έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην έρευνα ως βολικό πειραματικό υποκατάστατο των πρωτογενών ηπατοκυττάρων. Ειδικότερα, έχουν συμβάλει στην έρευνα για την ηπατίτιδα C και έχουν χρησιμοποιηθεί ως κύτταρα ξενιστές για τον πολλαπλασιασμό του ιού in vitro. Τα κύτταρα HuH-7 έχουν διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο στην έρευνα για την ηπατίτιδα C, ιδίως όσον αφορά την ανάπτυξη φαρμάκων. Πριν από το 2005, οι ερευνητές δεν μπορούσαν να καλλιεργήσουν τον ιό της ηπατίτιδας C στο εργαστήριο, γεγονός που καθιστούσε δύσκολη τη δοκιμή πιθανών υποψήφιων φαρμάκων εναντίον του. Η εισαγωγή της κυτταρικής σειράς HuH-7 το άλλαξε αυτό. Τα κύτταρα αυτά είναι ιδιαίτερα επιτρεπτά στον πολλαπλασιασμό του ιού της ηπατίτιδας C, γεγονός που τα καθιστά ιδανικά για in vitro δοκιμές. Χρησιμοποιώντας τα κύτταρα HuH-7, οι ερευνητές μπόρεσαν να ελέγξουν υποψήφια φάρμακα κατά της εργαστηριακής ηπατίτιδας C, γεγονός που άνοιξε το δρόμο για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων για την καταπολέμηση του ιού. Σε αντίθεση με άλλες καθιερωμένες ανθρώπινες κυτταρικές σειρές ηπατώματος, τα κύτταρα HuH-7 μπορούν να πολλαπλασιαστούν σε ένα χημικά καθορισμένο μέσο που περιέχει ίχνη σεληνίου αντί για ορό. Αυτό επιτρέπει τη συστηματική μελέτη των in vitro επιδράσεων διαφόρων ενώσεων στην ανάπτυξη και το μεταβολισμό τους.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ήπαρ
Disease	Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα
Metastatic site	Ηπάτωμα
Synonyms	HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, ιαπωνική καλλιέργεια ιστών-39

Χαρακτηριστικά

Age	57 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Ιαπωνικά
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο

Product sheet

Κύτταρα HuH7 | 300156

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HuH7 (αριθμός καταλόγου Cytion 300156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια.
Viruses	Αρνητική για HPV, HCV και HIV.

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 έως 2 x 10^4 κύτταρα/cm^2 κατά τη διάρκεια της συνήθους κυτταρικής καλλιέργειας
Fluid renewal	Κάθε 3 ημέρες

Κύτταρα HuH7 | 300156

Post-Thaw Recovery	Ξεκινήστε την καλλιέργεια χρησιμοποιώντας 2 έως 3 x 10^4 κύτταρα/cm^2. Τα κύτταρα θα ανακάμψουν εντός 24 έως 48 ωρών.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

Κύτταρα HuH7 | 300156

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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