

HuH7 sejtek | 300156

Általános információk

Description

A HuH-7 sejtek egyfajta epithelszerű, tumorigén sejtvonal, amelyet eredetileg egy 57 éves japán férfi májdaganatából vettek 1982-ben. A humán hepatomából származó HuH-7 sejtvonalat és származékait széles körben használják a kutatásban, mint a primer hepatociták kényelmes kísérleti helyettesítőjét. Különösen a hepatitis C kutatásában játszottak fontos szerepet, és gazdasejtként használták őket a vírus in vitro szaporításához. A HuH-7 sejtek döntő szerepet játszottak a hepatitis C kutatásban, különösen a gyógyszerfejlesztés terén. 2005 előtt a kutatók nem tudták a hepatitis C vírust laboratóriumban tenyészteni, ami megnehezítette a potenciális gyógyszerjelöltek ellene történő tesztelését.

A HuH-7 sejtvonal bevezetése megváltoztatta ezt. Ezek a sejtek rendkívül megengedőek a hepatitis C vírus szaporodásával szemben, így ideálisak az in vitro teszteléshez. A HuH-7 sejtek használatával a kutatók képesek voltak a gyógyszerjelölteket laboratóriumban termesztett hepatitis C ellen szűrni, ami megnyitotta az utat a vírus elleni új gyógyszerek kifejlesztése előtt. Más bevett humán hepatóma sejtvonalakkal ellentétben a HuH-7 sejtek kémiaiilag meghatározott közegben szaporíthatók, amely a szérumban helyett nyomokban szelént tartalmaz. Ez lehetővé teszi a különböző vegyületek növekedésre és anyagcserére gyakorolt in vitro hatásainak szisztematikus vizsgálatát.

Organism

Emberi

Tissue

Máj

Disease

Hepatocelluláris karcinóma

Metastatic site

Hepatoma

Synonyms

HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, japán szövetkultúra-39

Jellemzők

Age

57 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Japán

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

HuH7 sejtek | 300156

Citation HuH7 (Cytion katalógusszám: 300156)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0336

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic Igen, meztelen egereken.

Viruses Negatív HPV-re, HCV-re és HIV-re.

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 48 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density $1-2 \times 10^4$ sejt/cm² rutin sejt kultúra során

Fluid renewal 3 naponta

Post-Thaw Recovery Kezdje el a tenyésztést $2-3 \times 10^4$ sejt/cm² felhasználásával. A sejtek 24-48 órán belül helyreállnak.

HuH7 sejtek | 300156

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt-kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HuH7 sejtek | 300156

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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