

HuH7 ląstelės | 300156

Bendra informacija

Description

HuH-7 ląstelės - tai epitelio tipo navikinių ląstelių linija, iš pradžių paimta 1982 m. iš 57 metų japono kepenų naviko. Žmogaus hepatomos HuH-7 ląstelių linija ir jos dariniai plačiai naudojami moksliniuose tyrimuose kaip patogus eksperimentinis pirminių hepatocitų pakaitalas. Ypač jos padėjo atlikti hepatito C tyrimus ir buvo naudojamos kaip ląstelės šeimininkės virusui dauginti in vitro. HuH-7 ląstelės atliko labai svarbų vaidmenį hepatito C tyrimuose, ypač kuriant vaistus. Iki 2005 m. mokslininkai negalėjo laboratorijoje auginti hepatito C viruso, todėl buvo sunku išbandyti galimus vaistus nuo jo.

HuH-7 ląstelių linija pakeitė šią situaciją. Šios ląstelės yra labai tolerantiškos hepatito C viruso replikacijai, todėl idealiai tinka in vitro bandymams. Naudodami HuH-7 ląsteles, mokslininkai galėjo patikrinti kandidatus į vaistus nuo laboratorijoje užauginto hepatito C, o tai atvėrė kelią naujų vaistų nuo šio viruso kūrimui. Skirtingai nuo kitų sukurtų žmogaus hepatomos ląstelių linijų, HuH-7 ląsteles galima dauginti chemiškai apibrėžtoje terpėje, kurioje vietoj serumo yra pėdsakiniai seleno kiekiai. Tai leidžia sistemingai tirti įvairių junginių poveikį jų augimui ir metabolizmui in vitro.

Organism Žmogus

Tissue Kepenys

Disease Hepatocelulinė karcinoma

Metastatic site Hepatoma

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

Charakteristikos

Age 57 metai

Gender Vyras

Ethnicity Japonų

Morphology | epitelį panašus

Growth properties Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation HuH7 (Cytion katalogo numeris 300156)

HuH7 ląstelės | 300156

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0336

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic Taip, nuogoms pelėms.

Viruses ŽPV, HCV ir ŽIV testai neigiami.

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 48 valandos

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 1–2 x 10⁴ ląstelės/cm² įprastinės ląstelių kultūros metu

Fluid renewal Kas 3 dienas

Post-Thaw Recovery Pradėkite kultūrą naudodami 2–3 x 10⁴ ląsteles/cm². Ląstelės atsigaus per 24–48 valandas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HuH7 ląstelės | 300156

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HuH7 ląstelės | 300156

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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