Product sheet

HepG2 šūnas | 300198

Vispārīga informācija

Description	HepG2 šūnas - hepatoblastomas šūnu līnija - ir stūrakmens bioloģijas zinātnē, jo īpaši aknu vēža pētniecībā. HepG2 šūnu līnija pirmo reizi tika izolēta 1975. gadā un sākotnēji kļūdaini klasificēta kā hepatocelulārā karcinoma, bet vēlāk HepG2 šūnu līnijas izcelsme tika atzīta par hepatoblastomu, tādējādi noskaidrojot gadiem ilgušās zinātniskās neskaidrības. Cilvēka aknu šūnu līnijas, piemēram, HepG2, parasti izmanto kā in vitro modeļus primārajiem cilvēka hepatocītiem. Šīm šūnu līnijām ir tādas priekšrocības kā neierobežota proliferācija, stabils fenotips, viegla pieejamība un viegla manipulācija. Tomēr salīdzinājumā ar primārajiem hepatocītiem tām ir samazināta dažu metabolisko funkciju ekspresija. No hepatocelulārās karcinomas iegūtās HepG2 šūnas ātri vairojas, tām ir epitēlijam līdzīga morfoloģija, un tās veic daudzas specializētas aknu funkcijas. Neraugoties uz šīm atšķirībām, HepG2 šūnas tiek plaši izmantotas zāļu metabolisma un toksicitātes pētījumos, pateicoties to līdzībai ar hepatocelulārās karcinomas un hepatoblastomas šūnām zāļu metabolisma un transporta olbaltumvielu ziņā. HepG2 ir cilvēka aknu vēža šūnu līnija, ko bieži izmanto pētījumos, tostarp zāļu metabolisma un toksicitātes pētījumos. Tomēr viens no HepG2 hepatomas šūnu ierobežojumiem ir to dažu aknām specifisku funkciju, tostarp citohroma P450 enzīmu, izmainītā ekspresija. Citohroma P450 enzīmi ir būtiski ksenobiotiku (svešķermeņu, piemēram, zāļu un kancerogēnu) metabolismam aknās. Šo enzīmu izmainīta vai samazināta ekspresija HepG2 šūnās var ietekmēt to spēju precīzi modelēt ksenobiotiku metabolismu un izvadīšanu, kas ir būtisks aknu darbības aspekts. HepG2 šūnu līnija līdzās citām hepatomas šūnu līnijām, piemēram, Hep3B un cilvēka hepatomas HepaRG šūnu līnijām, veicina plašāku izpratni par cilvēka aknu karcinomas šūnām. Šūnu līnija izceļas ar savu daudzpusību, jo tā ir optimāla izvēle stabilu šūnu līniju veidošanai, transfekcijas pētījumiem, zāļu metabolisma un hepatotoksicitātes pētījumiem. Turklāt HepG2 šūnu līnija ir ļoti svarīga virknei lietojumu, sākot no 3D šūnu kultūras līdz augstas veiktspējas skrīningam un toksikoloģijai.
Organism	Cilvēks
Tissue	Aknas
Disease	Hepatocelulārā karcinoma
Applications	Šī šūnu līnija ir optimāla izvēle transfekcijai. Turklāt HepG2 šūnas piedāvā virkni pielietojumu, sākot no 3D šūnu kultūras un vēža pētījumiem līdz pat augstas veiktspējas skrīningam un toksikoloģijai.
Synonyms	HEP-G2, Hep G2, HEP G2, Hep-G2, HEPG2

Raksturojums

Age	15 gadi
Gender	Vīrieši

HepG2 šūnas | 300198

Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	HepG2 (Cytion kataloga numurs 300198)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0027

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	Insulīns, insulīnam līdzīgais augšanas faktors II (IGF II)
Protein expression	P53 pozitīvs
Tumorigenic	Nē
Products	Albumīns, alfa-fetoproteīns (alfa-fetoproteīns), alfa-1 skābais glikoproteīns (alfa-1 skābais glikoproteīns), alfa-1 antitripsīns (alfa-1-antitripsīns), alfa-1 antihimotripsīns (alfa-1-antihimotripsīns), alfa2 HS glikoproteīns (alfa-2-HS- glikoproteīns), alfa2 makroglobulīns (alfa-2-makroglobulīns), beta lipoproteīns (beta-lipoproteīns), ceruloplazmins, C4 un C3 aktivators, fibrinogēns, haptoglobīns, plazminogēns, retinolu saistošais proteīns (retinolu saistošais proteīns), transferīns
Karyotype	Modālais skaits = 55 (diapazons = 50 līdz 60), ir pārkārtota hromosoma 1

Darbs ar

Culture Medium	Hama F12, w: 1,0 mM stabils glutamīns, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 1,1 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820600a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS

HepG2 šūnas | 300198

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	2 līdz 3 x 10^{4} šūnas/cm^{2} rutīniskā kultūrā
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Uzsāciet kultivēšanu, izmantojot visu kriovietas saturu 2xT25 šūnu kultūru kolbās. Šūnas atjaunosies 48 līdz 72 stundu laikā.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HepG2 šūnas | 300198

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**A***: '02:01:01, '24:02:01 **B***: '35:14:01, '51:08:01 **C***: '04:01:01, '16:02:01 **DRB1***: '13:02:01, '16:02:01 **DQA1***: '01:02:01, '05:05:01 **DQB1***: '03:01, '06:04 **DPB1***: '02:01:02, '04:02:01 **E**: '01:01:01