Product sheet

Komórki HuH7 | 300156

Informacje ogólne

Description	Komórki HuH-7 są typem nabłonkowej, nowotworowej linii komórkowej, pierwotnie pobranej z guza wątroby u 57-letniego Japończyka w 1982 roku. Pochodząca z ludzkiego wątrobiaka linia komórkowa HuH-7 i jej pochodne były szeroko stosowane w badaniach jako wygodny eksperymentalny substytut pierwotnych hepatocytów. W szczególności odegrały one kluczową rolę w badaniach nad wirusowym zapaleniem wątroby typu C i były wykorzystywane jako komórki gospodarza do namnażania wirusa in vitro. Komórki HuH-7 odegrały kluczową rolę w badaniach nad wirusowym zapaleniem wątroby typu C, zwłaszcza jeśli chodzi o opracowywanie leków. Przed 2005 rokiem naukowcy nie byli w stanie hodować wirusa zapalenia wątroby typu C w laboratorium, co utrudniało testowanie potencjalnych kandydatów na leki przeciwko niemu. Wprowadzenie linii komórkowej HuH-7 zmieniło ten stan rzeczy. Komórki te są wysoce podatne na replikację wirusa zapalenia wątroby typu C, co czyni je idealnymi do testów in vitro. Wykorzystując komórki HuH-7, naukowcy byli w stanie badać kandydatów na leki przeciwko laboratoryjnie wyhodowanemu wirusowi zapalenia wątroby typu C, co utorowało drogę do opracowania nowych leków zwalczających wirusa. W przeciwieństwie do innych uznanych linii komórkowych ludzkiego wątrobiaka, komórki HuH-7 mogą być rozmnażane w chemicznie zdefiniowanej pożywce zawierającej śladowe ilości selenu zamiast surowicy. Pozwala to na systematyczne badania wpływu in vitro różnych związków na ich wzrost i metabolizm.
Organism	Człowiek
Tissue	Wątroba
Disease	Rak wątrobowokomórkowy
Metastatic site	Wątrobiak
Synonyms	HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, Japanese Tissue Culture-39

Charakterystyka

Age	57 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Japoński
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Product sheet

Komórki HuH7 | 300156

Dane regulacyjne

Citation	HuH7 (numer katalogowy Cytion 300156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0336
Depositor	T. Lindl

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak, u nagich myszy.
Viruses	Ujemny wynik testów na HPV, HCV i HIV.

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:6
Seeding density	1 do 2 x 10^4 komórek/cm^2 podczas rutynowej hodowli komórkowej

Komórki HuH7 | 300156

Fluid renewal	Co 3 dni
Post-Thaw Recovery	Rozpocznij hodowlę, stosując 2 do 3 x 10^4 komórek/cm^2. Komórki odzyskają żywotność w ciągu 24 do 48 godzin.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak

Komórki HuH7 | 300156

Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki HuH7 | 300156

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
Allele 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