

Celice HuH7 | 300156

Splošne informacije

Description

Celice HuH-7 so vrsta epitelijskim celicam podobne, tumorogene celične linije, ki je bila prvotno vzeta iz jetrnega tumorja 57-letnega Japonca leta 1982. Celična linija HuH-7, pridobljena iz človeškega hepatoma, in njeni derivati se pogosto uporabljajo v raziskavah kot priročen poskusni nadomestek za primarne hepatocite. Zlasti so bile koristne pri raziskavah hepatitisa C in se uporabljajo kot gostiteljske celice za razmnoževanje virusa in vitro. Celice HuH-7 so imele ključno vlogo pri raziskavah hepatitisa C, zlasti pri razvoju zdravil. Pred letom 2005 raziskovalci niso mogli gojiti virusa hepatitisa C v laboratoriju, kar je oteževalo testiranje potencialnih kandidatov za zdravila proti njemu.

Z uvedbo celične linije HuH-7 se je to spremenilo. Te celice so zelo dovzetne za razmnoževanje virusa hepatitisa C, zato so idealne za testiranje in vitro. Z uporabo celic HuH-7 so raziskovalci lahko preverili kandidate za zdravila proti laboratorijsko gojenemu hepatitisu C, kar je odprlo pot razvoju novih zdravil za boj proti virusu. Za razliko od drugih uveljavljenih človeških hepatomskih celičnih linij se lahko celice HuH-7 razmnožujejo v kemično določenem gojišču, ki namesto seruma vsebuje sledove selena. To omogoča sistematične študije in vitro učinkov različnih spojin na njihovo rast in presnovo.

Organism

Človek

Tissue

Jetra

Disease

Hepatocelularni karcinom

Metastatic site

Hepatom

Synonyms

HuH-7, HUH-7, Huh-7, Huh7, HUH7, HUH7.0, JTC-39, japonska kultura tkiv-39

Značilnosti

Age

57 let

Gender

Moški

Ethnicity

Japonski

Morphology

Epitelijam podobni

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Celice HuH7 | 300156

Citation HuH7 (katalogška številka Cytion 300156)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0336

Biomolekularni podatki

Tumorigenic Da, na golih miših.

Viruses Negativna za HPV, HCV in HIV.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 48 ur

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1 do 2×10^4 celic/cm² med rutinsko celično kulturo

Fluid renewal Vsakih 3 dni

Post-Thaw Recovery Začnite kultiviranje z 2 do 3×10^4 celicami/cm². Celice se bodo obnovile v 24 do 48 urah.

Celice HuH7 | 300156

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice HuH7 | 300156

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključuje z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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