

Huh-7.5.1 Buňky | 305491**Obecné informace****Description**

Buněčná linie Huh-7.5.1 je subklon odvozený z buněk hepatomu Huh-7, který je známý svou zvýšenou náchylností k replikaci viru hepatitidy C (HCV). Buňky Huh-7.5.1, vyvinuté jako vylepšená verze buněčné linie Huh-7.5, byly izolovány z vyléčené replikonové buněčné linie HCV a vykazují ve srovnání se svými předchůdkyněmi vyšší náchylnost k infekci HCV. Jsou schopny podporovat silné replikační cykly HCV, což z nich činí preferovaný model pro studium životních cyklů HCV, včetně vstupu viru do buňky, replikace RNA a produkce infekčních částic.

Použití buněk Huh-7.5.1 se v výzkumu HCV osvědčilo zejména díky jejich zvýšené účinnosti při replikaci virové RNA a produkci infekčních virů. Tato buněčná linie vykazuje vysoké virové titry, které při infekci kmenem HCV-JFH1 obvykle dosahují 10^4 až 10^5 infekčních jednotek na mililitr v kultivačních supernatantech. Tato vlastnost umožňuje podrobnou analýzu virové patogeneze a antivirových reakcí in vitro. Důležité je, že buňky Huh-7.5.1 se používají při screeningu antivirových sloučenin zaměřených na HCV, čímž napomáhají vývoji léčby proti HCV a poskytují poznatky o mechanismech rezistence.

Kromě toho byly tyto buňky použity v širších studiích zabývajících se interakcemi viru s mechanismy hostitelské buňky, metabolismem lipidů a souvisejícími terapeutickými cíli. Například inhibice buněčných drah, jako je SREBP dráha zprostředkovaná proteázou SKI-1/S1P, prokázala vliv na replikaci viru v buňkách Huh-7.5.1, což zdůrazňuje jejich užitečnost pro výzkum antivirových strategií zaměřených na hostitele.

Organism

Člověk

Tissue

Játra

Disease

Hepatocelulární karcinom u dospělých

Synonyms

Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Charakteristika**Age**

57 let

Gender

Muži

Ethnicity

Japonský

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

Huh-7.5.1 (katalogové číslo Cytion 305491)

Huh-7.5.1 Buňky | 305491

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_E049

Biomolekulární data

Virus susceptibility

Ve srovnání s mateřskou buněčnou linií Huh-7 umožňuje při infekci kmenem JFH-1 zvýšenou produkci viru hepatitidy C (HCV).

Mutational profile

Mutace: KDR, p.Gln472His (c.1416A>T), homozygotní; Mutace: POLD3, p.Lys109Arg (c.326A>G) (p.Lys70Arg, c.209A>G); Mutace: RIGI, p.Thr55Ile (c.164C>T); Mutace: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutace: TP53, p.Tyr220Cys (c.659A>G), homozygotní

Zpracování

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Huh-7.5.1 Buňky | 305491**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Huh-7.5.1 Buňky | 305491

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolování.