Product sheet

Huh-7.5.1 Κύτταρα | 305491

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά Huh-7.5.1 είναι ένας υποκλώνος που προέρχεται από τα κύτταρα ηπατώματος Huh-7, γνωστός για την αυξημένη ευαισθησία του στην αναπαραγωγή του ιού της ηπατίτιδας C (HCV). Τα κύτταρα Huh-7.5.1, τα οποία αναπτύχθηκαν ως βελτιωμένη έκδοση της κυτταρικής σειράς Huh-7.5, δημιουργήθηκαν από μια θεραπευμένη κυτταρική σειρά ρεπλικονίου του HCV και παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία στη μόλυνση από τον HCV σε σύγκριση με τους προκατόχους τους. Είναι ικανά να υποστηρίζουν ισχυρούς κύκλους αναπαραγωγής του HCV, γεγονός που τα καθιστά ένα προτιμώμενο μοντέλο για τη μελέτη των κύκλων ζωής του HCV, συμπεριλαμβανομένης της εισόδου του ιού, της αναπαραγωγής του RNA και της παραγωγής μολυσματικών σωματιδίων. Η χρήση των κυττάρων Huh-7.5.1 έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα πολύτιμη στην έρευνα για τον HCV, λόγω της αυξημένης αποτελεσματικότητάς τους στην αναπαραγωγή του ιικού RNA και στην παραγωγή μολυσματικών ιών. Αυτή η κυτταρική σειρά παρουσιάζει υψηλούς ιικούς τίτλους, που συνήθως φτάνουν τις 10^4 έως 10^5 μολυσματικές μονάδες ανά χιλιοστόλιτρο στα υπερκείμενα καλλιεργειών κατά τη διάρκεια μολύνσεων με το στέλεχος HCV-JFH1. Αυτό το χαρακτηριστικό επιτρέπει τη λεπτομερή ανάλυση της ιικής παθογένεσης και των αντιιικών αποκρίσεων in vitro. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα κύτταρα Huh-7.5.1 χρησιμοποιούνται στον έλεγχο αντιιικών ενώσεων που στοχεύουν τον HCV, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη θεραπειών κατά του HCV και παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με τους μηχανισμούς αντοχής. Επιπλέον, τα κύτταρα έχουν χρησιμοποιηθεί σε ευρύτερες μελέτες που αφορούν τις αλληλεπιδράσεις του ιού με τους μηχανισμούς του κυττάρου-ξενιστή, το μεταβολισμό των λιπιδίων και σχετικούς θεραπευτικούς στόχους. Για παράδειγμα, η αναστολή κυτταρικών οδών, όπως η οδός SREBP που μεσολαβείται από την πρωτεάση SKI-1/S1P, έχει αποδείξει ότι επηρεάζει την αναπαραγωγή του ιού εντός των κυττάρων Huh-7.5.1, υπογραμμίζοντας τη χρησιμότητά τους για την έρευνα σχετικά με αντιιικές στρατηγικές που στοχεύουν στον ξενιστή.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ήπαρ
Disease	Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ενηλίκων
Synonyms	Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Χαρακτηριστικά

Age	57 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Ιαπωνικά

Huh-7.5.1 Κύτταρα | 305491

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Huh-7.5.1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305491)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E049

Βιομοριακά δεδομένα

Virus susceptibility	Σε σύγκριση με τη μητρική κυτταρική σειρά Huh-7, επιτρέπει την αυξημένη παραγωγή του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) όταν μολυνθεί με το στέλεχος JFH-1.
Mutational profile	Μετάλλαξη: KDR, p.Gln472His (c.1416A>T), ομόζυγη· Μετάλλαξη: POLD3, p.Lys109Arg (c.326A>G) (p.Lys70Arg, c.209A>G); Μετάλλαξη: RIGI, p.Thr55Ile (c.164C>T); Μετάλλαξη: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Μετάλλαξη: TP53, p.Tyr220Cys (c.659A>G), ομόζυγη

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	2-4*10^4/cm^2
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Huh-7.5.1 Κύτταρα | 305491

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Huh-7.5.1 Κύτταρα | 305491

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.