

Huh-7.5.1 rakud | 305491

Üldine teave

Description

Huh-7.5.1 rakuliin on Huh-7 hepatoma rakkudest saadud subkloon, mis on tuntud oma suurema vastuvõtlikkuse poolest C-hepatiidi viiruse (HCV) replikatsioonile. Huh-7.5.1 rakud, mis on välja töötatud Huh-7.5 rakuliini täiustatud versioonina, loodi ravitud HCV-replikoni rakuliinist ning need on oma eelkäijatega võrreldes vastuvõtlikumad HCV-nakkusele. Need suudavad toetada tugevaid HCV replikatsioonitsükleid, mis teeb neist eelistatud mudeli HCV elutsükli uurimiseks, sealhulgas viiruse sisenemist, RNA replikatsiooni ja nakkavate osakeste tootmist.

Huh-7.5.1-rakkude kasutamine on olnud HCV-uuringutes eriti väärtuslik tänu nende suuremale efektiivsusele viiruse RNA replikatsioonis ja nakkavate viiruste tootmises. Kõnealune rakuliin näitab kõrgeid viirusetitreid, mis HCV-JFH1 tüve nakatumise korral ulatuvad kultuuri supernatandis tavaliselt 10^4 kuni 10^5 nakkavat ühikut milliliitri kohta. See omadus võimaldab viiruse patogeneesi ja antiviruuslike reaktsioonide üksikasjalikku analüüsi in vitro. Oluline on, et Huh-7.5.1 rakke kasutatakse HCV-le suunatud viirusevastaste ühendite sõelumisel, aidates kaasa HCV-vastaste ravimeetodite väljatöötamisele ja andes ülevaate resistentsusmehhanismidest.

Lisaks on neid rakke kasutatud laiemates uuringutes, mis käsitlevad viiruse interaktsioone peremeesraku süsteemiga, lipiidide ainevahetust ja nendega seotud terapeutilisi sihtmärke. Näiteks on selliste rakuliste signaaliteede nagu SKI-1/S1P proteaasi vahendatud SREBP-signaalitee pärssimine näidanud mõju viiruse replikatsioonile Huh-7.5.1-rakkudes, rõhutades nende kasulikkust peremeesrakule suunatud viirusevastaste strateegiate uurimisel.

Organism	Inimene
Tissue	Maksa
Disease	Täiskasvanute hepatotsellulaarne kartsinoom
Synonyms	Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Omadused

Age	57 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Jaapani
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Huh-7.5.1 rakud | 305491**Citation** Huh-7.5.1 (Cytioni katalooginumber 305491)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_E049**Biomolekulaarsed andmed****Virus susceptibility** Võrreldes emarakuliiniga Huh-7 võimaldab see JFH-1 tüvega nakatumisel C-hepatiidi viiruse (HCV) paremat tootmist.**Mutational profile** Mutatsioon: KDR, p.Gln472His (c.1416A>T), homosügootne; Mutatsioon: POLD3, p.Lys109Arg (c.326A>G) (p.Lys70Arg, c.209A>G); Mutatsioon: RIGI, p.Thr55Ile (c.164C>T); Mutatsioon: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutatsioon: TP53, p.Tyr220Cys (c.659A>G), homosügootne**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Huh-7.5.1 rakud | 305491

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Huh-7.5.1 rakud | 305491

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.