

Huh-7.5.1 Sejtek | 305491

Általános információk

Description

A Huh-7.5.1 sejtvonal a Huh-7 hepatoma sejtekből származó szubklón, amely a hepatitis C vírus (HCV) replikációjára irányuló fokozott fogékonyságáról ismert. A Huh-7.5 sejtvonal továbbfejlesztett változataként kifejlesztett Huh-7.5.1 sejtek egy gyógyított HCV-replikon sejtvonalból lettek létrehozva, és elődeikhez képest nagyobb fogékonyságot mutatnak a HCV-fertőzésre. Képesek erőteljes HCV-replikációs ciklusok fenntartására, ami miatt kedvelt modellként szolgálnak a HCV életciklusának tanulmányozásához, beleértve a vírus bejutását, az RNS-replikációt és a fertőző részecskék termelését.

A Huh-7.5.1 sejtek használata különösen értékesnek bizonyult a HCV-kutatásban, mivel fokozott hatékonysággal támogatják a vírus-RNS replikációját és a fertőző vírusok termelését. Ez a sejtvonal magas vírustiterrel rendelkezik, amely HCV-JFH1 törzsű fertőzések során a tenyészet felülszóiban jellemzően eléri a 10^4 – 10^5 fertőző egységet milliliterenként. Ez a tulajdonság lehetővé teszi a vírusos patogenezis és az antivirális válaszok részletes in vitro elemzését. Fontos kiemelni, hogy a Huh-7.5.1 sejteket a HCV-t célzó antivirális vegyületek szűrésére is alkalmazzák, ami elősegíti a HCV elleni kezelések fejlesztését, és betekintést nyújt a rezisztenciamechanizmusokba.

Ezen felül a sejteket szélesebb körű vizsgálatokban is alkalmazták, amelyek a vírus és a gazdasejt-mechanizmusok közötti kölcsönhatásokat, a lipidanyagcserét, valamint a kapcsolódó terápiás célpontokat vizsgálták. Például olyan sejtes útvonalak gátlása, mint az SKI-1/S1P proteáz által közvetített SREBP-útvonal, kimutatható hatást gyakorolt a vírus replikációjára a Huh-7.5.1 sejtekben, ami kiemeli hasznosságukat a gazdaszervezetre irányuló antivirális stratégiák kutatásában.

Organism

Emberi

Tissue

Máj

Disease

Felnőttkori hepatocelluláris karcinóma

Synonyms

Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Jellemzők

Age

57 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Japán

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Huh-7.5.1 Sejtek | 305491**Citation** Huh-7.5.1 (Cytion katalógusszám: 305491)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_E049**Biomolekuláris adatok****Virus susceptibility** Az eredeti Huh-7 sejtvonálhoz képest a JFH-1 törzssel való fertőzés esetén fokozottabb hepatitis C-vírus (HCV) termelést tesz lehetővé.**Mutational profile** Mutáció: KDR, p.Gln472His (c.1416A>T), homozigóta; Mutáció: POLD3, p.Lys109Arg (c.326A>G) (p.Lys70Arg, c.209A>G); Mutáció: RIGI, p.Thr55Ile (c.164C>T); Mutáció: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutáció: TP53, p.Tyr220Cys (c.659A>G), homozigóta**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Huh-7.5.1 Sejtek | 305491

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.