

Huh-7.5.1 Cellule | 305491**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare Huh-7.5.1 è un sottoclone derivato dalle cellule di epatoma Huh-7, nota per la sua maggiore permissività alla replicazione del virus dell'epatite C (HCV). Sviluppate come versione migliorata della linea cellulare Huh-7.5, le cellule Huh-7.5.1 sono state ottenute da una linea cellulare replicante dell'HCV guarita e mostrano una maggiore suscettibilità all'infezione da HCV rispetto alle loro predecessori. Sono in grado di supportare robusti cicli di replicazione dell'HCV, il che le rende un modello privilegiato per lo studio dei cicli di vita dell'HCV, tra cui l'ingresso virale, la replicazione dell'RNA e la produzione di particelle infettive.

L'uso delle cellule Huh-7.5.1 si è rivelato particolarmente prezioso nella ricerca sull'HCV grazie alla loro maggiore efficienza nella replicazione dell'RNA virale e nella produzione di virus infettivi. Questa linea cellulare presenta titoli virali elevati, che in genere raggiungono da 10^4 a 10^5 unità infettive per millilitro nei supernatanti di coltura durante le infezioni da ceppo HCV-JFH1. Questa caratteristica consente un'analisi dettagliata della patogenesi virale e delle risposte antivirali in vitro. È importante sottolineare che le cellule Huh-7.5.1 vengono impiegate nello screening di composti antivirali mirati all'HCV, favorendo lo sviluppo di trattamenti contro l'HCV e fornendo approfondimenti sui meccanismi di resistenza.

Inoltre, le cellule sono state utilizzate in studi più ampi riguardanti le interazioni virali con i meccanismi delle cellule ospiti, il metabolismo dei lipidi e i relativi bersagli terapeutici. Ad esempio, l'inibizione di vie cellulari quali la via SREBP mediata dalla proteasi SKI-1/S1P ha dimostrato di influire sulla replicazione virale all'interno delle cellule Huh-7.5.1, evidenziandone l'utilità per la ricerca sulle strategie antivirali dirette all'ospite.

Organism

Umano

Tissue

Fegato

Disease

Carcinoma epatocellulare adulto

Synonyms

Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Caratteristiche**Age**

57 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Giapponese

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Huh-7.5.1 Cellule | 305491**Citation** Huh-7.5.1 (codice Cytion 305491)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_E049**Dati biomolecolari****Virus susceptibility** Rispetto alla linea cellulare madre Huh-7, consente una maggiore produzione del virus dell'epatite C (HCV) in caso di infezione con il ceppo JFH-1.**Mutational profile** Mutazione: KDR, p.Gln472His (c.1416A>T), omozigote; Mutazione: POLD3, p.Lys109Arg (c.326A>G) (p.Lys70Arg, c.209A>G); Mutazione: RIGI, p.Thr55Ile (c.164C>T); Mutazione: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutazione: TP53, p.Tyr220Cys (c.659A>G), omozigote**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** 2-4*10⁴/cm²**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Huh-7.5.1 Cellule | 305491

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Huh-7.5.1 Cellule | 305491

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.