

Huh-7.5.1 ląstelės | 305491**Bendra informacija****Description**

Ląstelių linija „Huh-7.5.1“ yra iš „Huh-7“ hepatomos ląstelių išskirtas subklonas, žinomas dėl padidėjusio jautrumo hepatito C viruso (HCV) replikacijai. Huh-7.5.1 ląstelės, sukurtos kaip patobulinta Huh-7.5 ląstelių linijos versija, buvo išskirtos iš išgydytos HCV replikono ląstelių linijos ir, palyginti su savo pirmtakėmis, pasižymi didesniu jautrumu HCV infekcijai. Jos gali palaikyti intensyvių HCV replikacijos ciklus, todėl yra populiariausias modelis HCV gyvavimo ciklo tyrimams, įskaitant viruso patekimą į ląstelę, RNR replikaciją ir infekcinių dalelių gamybą.

Huh-7.5.1 ląstelių naudojimas HCV tyrimuose yra ypač vertingas dėl jų padidėjusio efektyvumo virusinės RNR replikacijos ir infekcinių virusų gamybos srityse. Ši ląstelių linija pasižymi aukštais virusų titrais, kurie HCV-JFH1 štamo infekcijų metu kultūros supernatantuose paprastai siekia nuo 10^4 iki 10^5 infekcinių vienetų mililitre. Ši savybė leidžia atlikti išsamią virusinės patogenezės ir antivirusinių reakcijų analizę in vitro. Svarbu paminėti, kad „Huh-7.5.1“ ląstelės naudojamos atrenkant antivirusinius junginius, nukreiptus prieš HCV, taip padedant kurti HCV gydymo būdus ir suteikiant įžvalgų apie atsparumo mechanizmus.

Be to, šios ląstelės buvo naudojamos platesniuose tyrimuose, susijusiuose su virusų sąveika su šeimininko ląstelių mechanizmais, lipidų apykaita ir susijusiais terapiniais taikiniais. Pavyzdžiui, ląstelių signalinių kelių, tokių kaip SKI-1/S1P proteazės reguliuojamas SREBP kelias, slopinimas parodė poveikį viruso replikacijai „Huh-7.5.1“ ląstelėse, pabrėždamas jų naudą atliekant tyrimus, susijusius su šeimininko organizmui nukreiptomis antivirusinėmis strategijomis.

Organism

Žmogus

Tissue

Kepenys

Disease

Suaugusiųjų hepatocelulinė karcinoma

Synonyms

Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Charakteristikos**Age**

57 metai

Gender

Vyras

Ethnicity

Japonų

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Huh-7.5.1 ląstelės | 305491

Citation	Huh-7.5.1 (Cytion katalogo numeris 305491)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_E049
-----------------------------	-----------

Biomolekuliniai duomenys

Virus susceptibility	Palyginti su pirminiu „Huh-7“ ląstelių kamieniu, užsikrėtus JFH-1 štamui, šiame kamiene susidaro daugiau hepatito C viruso (HCV).
-----------------------------	---

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

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Seeding density	2–4 × 10 ⁴ /cm ²
------------------------	--

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Huh-7.5.1 ląstelės | 305491

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.