

Huh-7.5.1 šūnas | 305491

Vispārīga informācija

Description

Šūnu līnija Huh-7.5.1 ir no Huh-7 hepatomas šūnām atvasināts subklons, kas pazīstams ar paaugstinātu uzņēmību pret C hepatīta vīrusa (HCV) replikāciju. Huh-7.5.1 šūnas, kas izstrādātas kā uzlabota Huh-7.5 šūnu līnijas versija, tika izveidotas no izārstētas HCV replikona šūnu līnijas un salīdzinājumā ar savām priekštecēm izrāda lielāku uzņēmību pret HCV infekciju. Tās spēj uzturēt stabilus HCV replikācijas ciklus, kas padara tās par iecienītu modeli HCV dzīves ciklu pētīšanai, ieskaitot vīrusa iekļūšanu šūnā, RNS replikāciju un infekciozo daļiņu ražošanu.

Huh-7.5.1 šūnu izmantošana ir bijusi īpaši vērtīga HCV pētījumos, pateicoties to paaugstinātajai efektivitātei vīrusu RNS replikācijā un infekciozo vīrusu ražošanā. Šai šūnu līnijai raksturīgi augsti vīrusa titri, kas HCV-JFH1 celma infekcijas laikā kultūras supernatantos parasti sasniedz 10^4 līdz 10^5 infekciozo vienību uz mililitru. Šī īpašība ļauj in vitro veikt detalizētu vīrusa patogēnēzes un pretvīrusu reakciju analīzi. Svarīgi, ka Huh-7.5.1 šūnas tiek izmantotas pretvīrusu savienojumu skrīningā, kas vērsti pret HCV, tādējādi palīdzot izstrādāt ārstēšanas metodes pret HCV un sniedzot ieskatu rezistences mehānismos.

Turklāt šīs šūnas ir izmantotas plašākos pētījumos, kas saistīti ar vīrusa mijiedarbību ar saimniekšūnas mehānismiem, lipīdu vielmaiņu un saistītiem terapeitiskajiem mērķiem. Piemēram, tādu šūnu ceļu kā SKI-1/S1P proteāzes mediētā SREBP ceļa inhibīcija ir parādījusi ietekmi uz vīrusa replikāciju Huh-7.5.1 šūnās, uzsverot to lietderību pētījumos par uz saimnieku vērstām pretvīrusu stratēģijām.

Organism

Cilvēks

Tissue

Aknas

Disease

Pieaugušo hepatocelulārā karcinoma

Synonyms

Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Raksturojums

Age

57 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Japāņu

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

Huh-7.5.1 (Cytion kataloga numurs 305491)

Huh-7.5.1 šūnas | 305491

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E049

Biomolekulārie dati

Virus susceptibility	Salīdzinājumā ar sākotnējo Huh-7 šūnu līniju šī līnija nodrošina uzlabotu C hepatīta vīrusa (HCV) ražošanu, ja tā tiek inficēta ar celmu JFH-1.
Mutational profile	Mutācija: KDR, p.Gln472His (c.1416A>T), homozigota; Mutācija: POLD3, p.Lys109Arg (c.326A>G) (p.Lys70Arg, c.209A>G); Mutācija: RIGI, p.Thr55Ile (c.164C>T); Mutācija: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutācija: TP53, p.Tyr220Cys (c.659A>G), homozigota

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
----------------	---

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
-------------	-------------------------------

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

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

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
---------------	---

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Huh-7.5.1 šūnas | 305491

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.