

Huh-7.5.1 Cellen | 305491**Algemene informatie****Description**

De Huh-7.5.1-cel lijn is een subkloon die is afgeleid van de Huh-7-hepatomacellen en staat bekend om zijn verhoogde gevoeligheid voor replicatie van het hepatitis C-virus (HCV). De Huh-7.5.1-cellen, ontwikkeld als een verbeterde versie van de Huh-7.5-cel lijn, zijn gekweekt uit een genezen HCV-repliconcel lijn en vertonen een grotere vatbaarheid voor HCV-infectie dan hun voorgangers. Ze zijn in staat om robuuste HCV-replicatiecycli te ondersteunen, waardoor ze een geliefd model zijn voor het bestuderen van de levenscyclus van HCV, inclusief virale penetratie, RNA-replicatie en de productie van infectieuze deeltjes.

Het gebruik van Huh-7.5.1-cellen is bijzonder waardevol gebleken in HCV-onderzoek vanwege hun verhoogde efficiëntie bij virale RNA-replicatie en de productie van infectieuze virussen. Deze cel lijn vertoont hoge virale titers, die doorgaans 10^4 tot 10^5 infectieuze eenheden per milliliter bereiken in kweeksupernatanten tijdens infecties met de HCV-JFH1-stam. Deze eigenschap maakt een gedetailleerde analyse van de virale pathogenese en antivirale reacties in vitro mogelijk. Belangrijk is dat Huh-7.5.1-cellen worden ingezet bij het screenen op antivirale verbindingen die gericht zijn op HCV, wat de ontwikkeling van behandelingen tegen HCV ondersteunt en inzicht verschaft in resistentiemechanismen.

Daarnaast zijn de cellen gebruikt in bredere studies naar virale interacties met de mechanismen van de gastheercel, het lipidenmetabolisme en gerelateerde therapeutische doelwitten. Zo is bijvoorbeeld aangetoond dat remming van cellulaire routes, zoals de door het SKI-1/S1P-protease gemedieerde SREBP-route, invloed heeft op de virusreplicatie in Huh-7.5.1-cellen, wat het nut ervan voor onderzoek naar op de gastheer gerichte antivirale strategieën onderstreept.

Organism

Mens

Tissue

Lever

Disease

Hepatocellulair carcinoom bij volwassenen

Synonyms

Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Kenmerken**Age**

57 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Japans

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Huh-7.5.1 Cellen | 305491**Citation** Huh-7.5.1 (Cytion-catalogusnummer 305491)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_E049**Biomoleculaire gegevens****Virus susceptibility** In vergelijking met de oorspronkelijke Huh-7-celijn zorgt dit voor een verbeterde productie van het hepatitis C-virus (HCV) bij infectie met stam JFH-1.**Mutational profile** Mutatie: KDR, p.Gln472His (c.1416A>T), homozygoot; Mutatie: POLD3, p.Lys109Arg (c.326A>G) (p.Lys70Arg, c.209A>G); Mutatie: RIGI, p.Thr55Ile (c.164C>T); Mutatie: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutatie: TP53, p.Tyr220Cys (c.659A>G), homozygoot**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4 / \text{cm}^2$ **Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Huh-7.5.1 Cellen | 305491

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Huh-7.5.1 Cellen | 305491

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.