

Huh-7.5.1 Komórki | 305491**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Huh-7.5.1 jest subklonem wywodzącym się z komórek wątrobiaka Huh-7, znanym ze zwiększonej podatności na replikację wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV). Komórki Huh-7.5.1, opracowane jako ulepszona wersja linii komórkowej Huh-7.5, zostały wyhodowane z wyleczonej linii komórkowej replikonu HCV i wykazują większą podatność na zakażenie HCV w porównaniu ze swoimi poprzednikami. Są one zdolne do podtrzymywania intensywnych cykli replikacji HCV, co czyni je preferowanym modelem do badania cyklu życiowego HCV, w tym wnikania wirusa, replikacji RNA oraz produkcji zakaźnych cząstek.

Wykorzystanie komórek Huh-7.5.1 okazało się szczególnie cenne w badaniach nad HCV ze względu na ich zwiększoną wydajność w replikacji wirusowego RNA i produkcji zakaźnych wirusów. Linia ta charakteryzuje się wysokimi mianami wirusa, osiągającymi zazwyczaj od 10^4 do 10^5 jednostek zakaźnych na mililitr w supernatancie hodowli podczas zakażeń szczepem HCV-JFH1. Cecha ta umożliwia szczegółową analizę patogenezę wirusa oraz odpowiedzi przeciwwirusowych in vitro. Co istotne, komórki Huh-7.5.1 są wykorzystywane w badaniach przesiewowych związków przeciwwirusowych skierowanych przeciwko HCV, wspomagając opracowywanie terapii przeciwko HCV i dostarczając informacji na temat mechanizmów oporności.

Ponadto komórki te wykorzystywano w szerszych badaniach dotyczących interakcji wirusa z mechanizmami komórki gospodarza, metabolizmem lipidów oraz powiązanymi celami terapeutycznymi. Na przykład wykazano, że hamowanie szlaków komórkowych, takich jak szlak SREBP, w którym pośredniczy proteaza SKI-1/S1P, wpływa na replikację wirusa w komórkach Huh-7.5.1, co podkreśla ich przydatność w badaniach nad strategiami przeciwwirusowymi ukierunkowanymi na gospodarza.

Organism

Człowiek

Tissue

Wątroba

Disease

Rak wątrobowokomórkowy u dorosłych

Synonyms

Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Charakterystyka**Age**

57 lat

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Japoński

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Huh-7.5.1 Komórki | 305491**Citation** Huh-7.5.1 (numer katalogowy Cytion 305491)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_E049**Dane biomolekularne****Virus susceptibility** W porównaniu z macierzystą linią komórkową Huh-7 umożliwia zwiększoną produkcję wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) po zakażeniu szczepem JFH-1.**Mutational profile** Mutacja: KDR, p.Gln472His (c.1416A>T), homozygotyczna; Mutacja: POLD3, p.Lys109Arg (c.326A>G) (p.Lys70Arg, c.209A>G); Mutacja: RIGI, p.Thr55Ile (c.164C>T); Mutacja: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutacja: TP53, p.Tyr220Cys (c.659A>G), homozygotyczna**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Huh-7.5.1 Komórki | 305491

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Huh-7.5.1 Komórki | 305491

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.