

Huh-7.5.1 Bunky | 305491**Všeobecné informácie****Description**

Bunka Huh-7.5.1 je subklon odvodený z hepatómových buniek Huh-7, ktorý je známy svojou zvýšenou náchylnosťou na replikáciu vírusu hepatitídy C (HCV). Bunky Huh-7.5.1, vyvinuté ako vylepšená verzia bunkovej línie Huh-7.5, boli izolované z vyliečenej replikónovej bunky HCV a vykazujú vyššiu náchylnosť na infekciu HCV v porovnaní so svojimi predchodcami. Sú schopné podporovať robustné replikačné cykly HCV, čo z nich robí preferovaný model na štúdium životných cyklov HCV, vrátane vstupu vírusu, replikácie RNA a produkcie infekčných častíc.

Využitie buniek Huh-7.5.1 je obzvlášť cenné vo výskume HCV vďaka ich zvýšenej účinnosti pri replikácii vírusovej RNA a produkcii infekčných vírusov. Táto bunková línia vykazuje vysoké vírusové titry, ktoré pri infekcii kmeňom HCV-JFH1 zvyčajne dosahujú 10^4 až 10^5 infekčných jednotiek na mililiter v kultivačných supernatantoch. Táto vlastnosť umožňuje podrobnú analýzu vírusovej patogenézy a antivírusových reakcií in vitro. Dôležité je, že bunky Huh-7.5.1 sa používajú pri skríningu antivírusových zlúčenín zameraných na HCV, čím pomáhajú pri vývoji liečby proti HCV a poskytujú poznatky o mechanizmoch rezistencie.

Okrem toho sa tieto bunky používajú v širších štúdiách zameraných na interakcie vírusu s mechanizmami hostiteľskej bunky, metabolizmom lipidov a súvisiacimi terapeutickými cieľmi. Napríklad inhibícia bunkových dráh, ako je dráha SREBP sprostredkovaná proteázou SKI-1/S1P, preukázala vplyv na replikáciu vírusu v bunkách Huh-7.5.1, čo zdôrazňuje ich užitočnosť pre výskum antivírusových stratégií zameraných na hostiteľa.

Organism

Ľudské

Tissue

Pečeň

Disease

Hepatocelulárny karcinóm u dospelých

Synonyms

Huh 7.5.1, Huh7.5.1

Charakteristika**Age**

57 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Japonský

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje**Citation**

Huh-7.5.1 (katalógové číslo Cytion 305491)

Huh-7.5.1 Bunky | 305491**Biosafety level**

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_E049

Biomolekulárne údaje**Virus susceptibility**

V porovnaní s materskou bunkovou líniou Huh-7 umožňuje zvýšenú produkciu vírusu hepatitídy C (HCV) pri infekcii kmeňom JFH-1.

Mutational profile

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

Spracovanie**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements**

Doplňte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium**

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Huh-7.5.1 Bunky | 305491

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Huh-7.5.1 Bunky | 305491

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.