Product sheet

Клетки HSF (SV40) | 305338

Обща информация

Description	Имортализираната клетъчна линия HSF(SV40) се отнася до клетки, които са генетично модифицирани, за да експресират големия Т-антиген (T-Ag) на Simian Virus 40 (SV40), който улеснява клетъчната имортализация. SV40 T-Ag е мощен онкопротеин, който взаимодейства с критични туморсупресорни протеини, като p53 и ретинобластомен протеин (Rb), което води до дезактивиране на техните туморсупресивни функции. Това взаимодействие нарушава нормалните механизми за контрол на клетъчния цикъл, като позволява на клетките да заобиколят стареенето и да се размножават безкрайно. Поради безсмъртния им характер и решаващото участие на SV40 T-Ag в тяхната трансформация HSF(SV40) клетките се използват широко в изследванията на рака, особено в проучвания, свързани с вирусната онкогенеза, регулацията на клетъчния цикъл и терапевтичните интервенции, насочени към молекулярните шаперони и тумор супресорните пътища. Използването им осигурява ценни познания за взаимодействието между вирусните онкопротеини и регулаторните мрежи на клетките-гостоприемници, като проправя пътя за разработването на целеви терапии за рак.
Organism	Човек
Metastatic site	Неприложимо (нормален фибробласт от далака; иммортализиран с SV40)
Applications	Онкогенеза на SV40; биология на туморните супресори p53/Rb; регулация на клетъчния цикъл; биология на фибробластите; биология на рака

Характеристики

Morphology	Подобни на фибробласти
Cell type	Човешки спленичен фибробласт
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	HSF(SV40) (каталожен номер 305338 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не е определено

Клетки HSF (SV40) | 305338

GMO Status	GMO-S1: Тази HSF фибробластна линия съдържа SV40 T-антиген, позволяващ имортализация за изследвания на дермалната и съединителната тъкан. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO3 (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълване на средата с 10% FBS, 50 микрограма/ml аскорбинова киселина
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	приблизително 24 до 36 часа
Subculturing	Измийте с PBS, добавете Accutase (8–10 мин. при стайна температура), ресуспендирайте, центрофугирайте при 300×g в продължение на 3 мин., след което повторно засейте.
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	от 1 до 3 × 10^4 клетки/$см^2$
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HSF (SV40) | 305338

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HSF (SV40) | 305338

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.