

Клетки CV-1 | 605471

Обща информация

Description

CV-1 е клетъчна линия от африканска зелена маймуна, получена от бъбрек през 1964 г. Първоначално използвана в изследвания, фокусирани върху трансформацията на канцерогенния саркомен вирус на Rous (RSV), тази фибробластоподобна клетъчна линия се използва широко в биологичните изследвания за производство на вируси, трансфекция и заглушаване на гени.

Тези клетки са отрицателни за обратна транскриптаза и са чувствителни към няколко вируса, включително полиовирус 1, херпес симплекс, симиийски вирус 40 (SV40), калифорнийски енцефалит и източен и западен енцефалит по конете.

Клетъчната линия CV-1 се характеризира с бърз растеж, залепва се върху пластмасови и стъклени повърхности и показва промени в броя на хромозомите при високи нива на пасажиране. Наблюдава се, че клетките CV-1 проявяват повишена туморогенност при плъхове Wistar, третирани с ATG, както и повишено образуване на клетъчни колонии в мек агар.

Освен това клетките CV-1 поддържат репликацията на вируса SV40 и проявяват бърза тимидинкиназна (ТК) активност след индуциране на симиански, адено и паповавирусни инфекции. Кариотипът на CV-1 клетките е $2n = 60$, псевдодиплоиден. CV-1 клетките са използвани за различни специфични приложения в биологичните изследвания, включително тестване на ефикасността, трансфекция на домакинството и тестване на вирусосоциди. Известно е също, че те са подходящ гостоприемник за трансфекция, особено чрез вектори SV40.

Organism Monkey

Tissue Бъбреци

Applications Подходящ гостоприемник за трансфекция, особено чрез вектори SV40.

Synonyms Cv-1, CV 1, CV-1.K, CV1

Характеристики

Age 141 дни

Gender Мъжки

Cell type Фибробласти

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки CV-1 | 605471

Citation CV-1 (каталожен номер 605471 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0229

Биомолекулярни данни

Virus susceptibility Полиовирус 1, херпес симплекс, източен енцефалит по конете, западен енцефалит по конете, калифорнийски енцефалит, SV40

Reverse transcriptase Отрицателен

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Split ratio Препоръчва се съотношение от 1:2 до 1:3

Seeding density 3 до 4×10^4 клетки/cm² ще дадат конфулентен слой за около 4 дни

Fluid renewal 2 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Клетки CV-1 | 605471

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.

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки CV-1 | 605471

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 / Генетичен профил / HLA

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.