

Клетки SV-80 | 300345

Обща информация

Description	Тази SV40-трансформирана линия първоначално е създадена с помощта на клетки, получени от кожна биопсия на възрастна жена (щам А) от Todaro et al. през 1963 г., а не от белодробна тъкан на петмесечен мъжки плод (щам С). След заразяването морфологията на растящите колонии се променя, като се образуват фибробластни и епителиални типове колонии. Определянето на SV-80 за белодробен произход, което след това е запазено, най-вероятно е било невалидно. Въпреки това тази клетъчна линия ще се характеризира допълнително по отношение на антигена p53 и наличието на голям Т антиген.
Organism	Човек
Tissue	Кожа
Disease	Фибробласти от нормална кожа (имуortalizirani с SV40; нетуморогенни)
Metastatic site	Неприложимо (нормална линия фибробласти; не е туморна проба)
Applications	Изследвания в областта на репарацията на ДНК; биология на фибробластите, иммортализирани с SV40; цитогенетика; тестове за генотоксичност; референтни нормални човешки фибробласти за сравнителни проучвания на рака; биология на големия Т-антиген на SV40
Synonyms	SV-80, SV 80, SV-A клонинг 80, SV клонинг 80, Симиански вирус 80

Характеристики

Age	Възрастни
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител
Cell type	Фибробласти
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	SV-80 (каталожен номер 300345 на Cytion)
-----------------	--

Клетки SV-80 | 300345

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0541**GMO Status** GMO-S1: Тази линия на човешки фибробласти SV-80 съдържа последователности на SV40 Т-антиген, които позволяват безсмъртие за ДНК-репарация и цитогенетични изследвания. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.**Биомолекулярни данни****Tumorigenic** SMRV: Отрицателен, потвърдено чрез Real-Time PCR**Karyotype** Модално число = 76, диапазон = 52-87**Работа с****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 до 24 часа**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** от 1 до 5**Seeding density** от 3 до 5 × 10³ клетки/см²**Fluid renewal** 1 до 2 пъти седмично

Клетки SV-80 | 300345

Post-Thaw Recovery

Бърз

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

Няма

Клетки SV-80 | 300345

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.

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 микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Профил на STR

Amelogenin: x, y
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 9,13
D5S818: 12
D7S820: 10
TH01: 9
TPOX: 10,11
vWA: 16
D3S1358: 16
D21S11: 28,3
D18S51: 15,2
Penta E: 11,12
Penta D: 9
D8S1179: 11:15
FGA: 21,27

Клетки SV-80 | 300345

HLA алели

A*: '02:01:01, '03:01:01

B*: '15:10:01, '45:01:01

C*: '03:04:02, '16:01:01

DRB1*: '10:01:01, '13:02:01

DQA1*: '01:02:01, '01:05:01

DQB1*: '05:01:01

DPB1*: '01:01:01, '04:02:01G

E: '01:01, '01:03