

Buňky CV-1 | 605471

Obecné informace

Description

CV-1 je buněčná linie africké zelené opice odvozená z ledvin v roce 1964. Tato buněčná linie podobná fibroblastům se původně používala ve výzkumu zaměřeném na transformaci karcinogenního viru Rousova sarkomu (RSV) a dnes se hojně využívá v biologickém výzkumu k produkci virů, transfekci a umlčování genů.

Tyto buňky jsou negativní na reverzní transkriptázu a jsou citlivé na několik virů, včetně polioviru 1, herpes simplex, simiiského viru 40 (SV40), kalifornské encefalitidy a východní i západní koňské encefalitidy.

Buněčná linie CV-1 vykazuje rychlý růst, roste přilnavě na plastových a skleněných površích a při vysokých pasážích vykazuje posuny počtu chromozomů. Bylo zjištěno, že buňky CV-1 vykazují zvýšenou tumorigenitu u potkanů Wistar ošetřených ATG a také zvýšenou tvorbu buněčných kolonií v měkkém agaru.

Buňky CV-1 navíc podporují replikaci viru SV40 a vykazují rychlou aktivitu tymidinkinázy (TK) po indukci infekce simiální, adeno a papovavirem. Karyotyp buněk CV-1 je pseudodiploidní, $2n = 60$. Buňky CV-1 byly použity v řadě specifických aplikací v biologickém výzkumu, včetně testování účinnosti, transfekce hostitele a testování virucidů. Jsou také známy jako vhodný hostitel pro transfekci, zejména vektory SV40.

Organism Opice

Tissue Ledviny

Applications Vhodný hostitel pro transfekci, zejména vektory SV40.

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

Charakteristika

Age 141 dní

Gender Muži

Cell type Fibroblasty

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation CV-1 (katalogové číslo Cytion 605471)

Biosafety level 1

Buňky CV-1 | 605471

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0229

Biomolekulární data

Virus susceptibility Poliovirus 1, herpes simplex, východní koňská encefalitida, západní koňská encefalitida, kalifornská encefalitida, SV40**Reverse transcriptase** Negativní

Zpracování

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)**Supplements** Doplněte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2 až 1:3**Seeding density** 3 až 4 x 10⁴ buněk/cm² vytvoří konfluentní vrstvu za přibližně 4 dny.**Fluid renewal** 2krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10⁴ buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky CV-1 | 605471

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladování při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Buňky CV-1 | 605471

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.