

Buňky SV-80 | 300345

Obecné informace

Description Tato linie transformovaná SV40 byla původně vytvořena s použitím buněk, které Todaro a kol. v roce 1963 získali z kožní biopsie dospělé ženy (kmen A), nikoli z plicní tkáně pětíměsíčního mužského plodu (kmen C). Po infekci se morfologie rostoucích kolonií změnila v tom smyslu, že vznikly fibroblastické a epiteloidní typy kolonií. Označení SV-80 jako plicního původu, které pak bylo zachováno, bylo s největší pravděpodobností neplatné. Tato buněčná linie však bude dále charakterizována z hlediska antigenu p53 a přítomnosti velkého T antigenu.

Organism Člověk

Tissue Kůže

Synonyms SV-80, SV 80, SV-A klon 80, SV klon 80, Simian virus 80

Charakteristika

Age Dospělí

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Morphology Epitelu podobné

Cell type Fibroblasty

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation SV-80 (katalogové číslo Cytion 300345)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0541

Buňky SV-80 | 300345

GMO Status GMO-S1: Tato linie lidských fibroblastů SV-80 obsahuje sekvence T-antigenů SV40, které umožňují immortalizaci pro výzkum oprav DNA a cytogenetiku. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Tumorigenic SMRV: Negativní, potvrzeno metodou Real-Time PCR

Karyotype Modální číslo = 76, rozsah = 52 až 87

Zpracování

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

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 až 24 hodin

Subculturing Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. 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 1:3

Fluid renewal 1 až 2krát týdně

Post-Thaw Recovery Rychle

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 SV-80 | 300345

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 °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 °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 x 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 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

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 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

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 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky SV-80 | 300345**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**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.

Profil 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

Alely HLA

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