

SV-80 rakud | 300345

Üldine teave

Description	See SV40-transformeeritud liin loodi algselt, kasutades rakke, mis olid saadud täiskasvanud naise nahabiopsiast (tüvi A) Todaro et al. poolt 1963. aastal, mitte viie kuu vanuse meessoost loote kopsukoes (tüvi C). Pärast nakatumist muutus kasvavate kolooniate morfoloogia selliselt, et tekkis fibroblastiline ja epiteloidne kolooniatüüp. Nimetus, et SV-80 on pärit kopsudest ja seejärel säilitati, oli tõenäoliselt kehtetu. Siiski iseloomustatakse seda rakuliini täiendavalt p53 antigeeni ja suure T-antigeeni olemasolu poolest.
Organism	Inimene
Tissue	Nahk
Disease	Normaalse naha fibroblast (SV40-ga surematuks muudetud; mittetuumorigeenne)
Metastatic site	Ei kohaldata (tavaline fibroblastide liin; ei ole kasvajaõud)
Applications	DNA parandamise uurimine; SV40-ga surematuks muudetud fibroblastide bioloogia; tsütogeneetika; genotoksilisuse testimine; normaalse inimese fibroblastide võrdlusmaterjal vähktõve võrdlusuuringuteks; SV40 suure T-antigeeni bioloogia
Synonyms	SV-80, SV 80, SV-A kloon 80, SV kloon 80, Simian virus 80, Simian virus 80

Omadused

Age	Täiskasvanud
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Fibroblastide
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	SV-80 (Cytioni katalooginumber 300345)
-----------------	--

SV-80 rakud | 300345

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0541**GMO Status** GMO-S1: See SV-80 inimese fibroblastide liin sisaldab SV40 T-antigeeni järjestust, mis võimaldab immortaliseerimist DNA parandamise ja tsütogeneetika uuringute jaoks. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** SMRV: negatiivne, nagu on kinnitanud Real-Time PCR**Karyotype** Modaal arv = 76, vahemik = 52 kuni 87**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 kuni 24 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Split ratio** 1-5**Seeding density** 3-5 × 10³ rakku/cm²**Fluid renewal** 1 kuni 2 korda nädalas

SV-80 rakud | 300345

Post-Thaw Recovery

Kiire

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.**Flask Coating**

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SV-80 rakud | 300345

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

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

HLA alleles

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