

SV-80-solut | 300345

Yleisiä tietoja

Description	Tämä SV40-transformoitunut linja on alun perin luotu käyttäen soluja, jotka Todaro et al. tuottivat vuonna 1963 aikuisen naisen ihobiopsiasta (kanta A), ei viiden kuukauden ikäisen miespuolisen sikiön keuhkokudoksesta (kanta C). Infektion jälkeen kasvavien pesäkkeiden morfologia muuttui siten, että syntyi fibroblastisia ja epiteloidisia pesäketyyppejä. Todennäköisesti SV-80:n nimeäminen keuhkoperäiseksi, joka sitten säilytettiin, oli virheellinen. Tätä solulinjaa luonnehditaan kuitenkin edelleen p53-antigeenin ja suuren T-antigeenin esiintymisen suhteen.
Organism	Ihminen
Tissue	Iho
Disease	Normaalin ihon fibroblastit (SV40:llä ikuistettuja; ei-kasvainmuodostavia)
Metastatic site	Ei sovelleta (normaali fibroblastilinja; ei kasvainnäyte)
Applications	DNA:n korjautumista koskeva tutkimus; SV40:llä ikuistettujen fibroblastien biologia; sytogeneettinen tutkimus; genotoksisuustestaus; normaali ihmisfibroblastien vertailukohde syöpätutkimuksissa; SV40:n suuren T-antigeenin biologia
Synonyms	SV-80, SV 80, SV-A-klooni 80, SV-klooni 80, Simian virus 80

Ominaisuudet

Age	Aikuiset
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Cell type	Fibroblastit
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Citation	SV-80 (Cytionin luettelonumero 300345)
-----------------	--

SV-80-solut | 300345

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0541

GMO Status GMO-S1: Tämä SV-80-ihmisen fibroblastilinja sisältää SV40 T-antigeenisekvenssejä, jotka mahdollistavat kuolemattomuuden DNA:n korjaamiseen ja sytogenetiikan tutkimukseen. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic SMRV: negatiivinen, vahvistettu reaaliaikaisella PCR:llä**Karyotype** Modaaliluku = 76, vaihteluväli = 52-87

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20-24 tuntia

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Split ratio 1-5

Seeding density $3-5 \times 10^3$ solua/cm²

Fluid renewal 1-2 kertaa viikossa

SV-80-solut | 300345

Post-Thaw Recovery

Nopea

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.**Flask Coating**

Ei mitään

SV-80-solut | 300345

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi**Sterility**

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

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

SV-80-solut | 300345

HLA-alleelit

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