

Cellules SV-80 | 300345

Informations générales

Description Cette lignée transformée par le SV40 a été générée à l'origine à partir de cellules provenant d'une biopsie de peau d'une femme adulte (souche A) par Todaro et al. en 1963, et non à partir du tissu pulmonaire d'un fœtus mâle âgé de cinq mois (souche C). Après l'infection, la morphologie des colonies en croissance a changé : des types de colonies fibroblastiques et épithéloïdes ont été produits. La désignation de SV-80 comme étant d'origine pulmonaire, puis conservée, n'était probablement pas valable. Cependant, cette lignée cellulaire sera caractérisée plus avant en termes d'antigène p53 et de présence d'antigène T large.

Organism Humain

Tissue Peau

Synonyms SV-80, SV 80, SV-A clone 80, SV clone 80, virus simien 80

Caractéristiques

Age Adulte

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Morphology De type épithélial

Cell type Fibroblaste

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation SV-80 (numéro de catalogue Cytion 300345)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0541

Cellules SV-80 | 300345

GMO Status OGM-S1 : Cette lignée de fibroblastes humains SV-80 contient des séquences d'antigènes T de SV40 permettant l'immortalisation pour la réparation de l'ADN et la recherche en cytogénétique. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

Tumorigenic SMRV : négatif, confirmé par PCR en temps réel

Karyotype Nombre modal = 76, fourchette = 52 à 87

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 à 24 heures

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:3 est recommandé

Fluid renewal 1 à 2 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Rapide

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules SV-80 | 300345

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules SV-80 | 300345

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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

Allèles 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