

## HSF (SV40) ląstelės | 305338

## Bendra informacija

## Description

HSF(SV40) imortalizuota ląstelių linija - tai ląstelės, kurios buvo genetiškai modifikuotos taip, kad ekspresuotų Simiano viruso 40 (SV40) didį T-antigeną (T-Ag), kuris palengvina ląstelių imortalizaciją. SV40 T-Ag yra stiprus onkoproteinas, kuris sąveikauja su svarbiausiais naviką slopinančiais baltymais, tokiais kaip p53 ir retinoblastomos baltymas (Rb), ir dėl to neveikia jų naviką slopinančių funkcijų. Ši sąveika sutrikdo įprastus ląstelių ciklo kontrolės mechanizmus, todėl ląstelės gali apleiti senatvę ir neribotai daugintis.

Dėl savo nemortalizuoto pobūdžio ir lemiamo SV40 T-Ag dalyvavimo jų transformacijoje HSF(SV40) ląstelės plačiai naudojamos vėžio tyrimuose, ypač tyrimuose, susijusiuose su virusų onkogeneze, ląstelių ciklo reguliavimu ir terapinėmis intervencijomis, nukreiptomis į molekulinis šaperonus ir naviką slopinančius kelius. Jų naudojimas suteikia vertingų įžvalgų apie virusinių onkoproteinų ir ląstelės šeiminkės reguliavimo tinklų sąveiką, atveria kelią tikslinių vėžio gydymo būdų kūrimui.

**Organism** Žmogus

## Charakteristikos

**Morphology** | fibroblastus panašus

**Cell type** Žmogaus blužnies fibroblastai

**Growth properties** Prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** HSF(SV40) (Cytion katalogo numeris 305338)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**GMO Status** GMO-S1: šioje HSF fibroblastų linijoje yra SV40 T-antigeno konstruktas, leidžiantis ją imortalizuoti odos ir jungiamojo audinio tyrimams. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

## Biomolekuliniai duomenys

## Tvarkymas

**HSF (SV40) ląstelės | 305338**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820400a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, 50 mikrogramų/ml askorbino

**Dissociation Reagent** Accutase

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, drėkintoje atmosferoje.

## HSF (SV40) ląstelės | 305338

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.