

SVG p12 ląstelės | 305878

Bendra informacija

Description

SVG p12 yra žmogaus vaisiaus gliolinių ląstelių linija, iš pradžių gauta iš vaisiaus smegenų audinio ir įamžinta transformuojant SV40 dideliu T antigenu. Ji plačiai naudojama kaip modelis neurotropinių poliomavirusų, ypač JC poliomaviruso (JCPyV), tyrimams dėl savo glialinės kilmės ir didelio atvirumo virusinei infekcijai. SVG p12 išlaiko astrocitu linijos savybes ir palaiko produktyvų JCPyV infekavimą ir dauginimąsi, todėl ji yra standartinė in vitro sistema virusų tropizmo, replikacijos ir patogenezės gliocituose tyrimams.

Tačiau vėlesnė analizė parodė, kad SVG p12 buvo užterštas BK poliomavirusu (BKPyV) po to, kai buvo deponuotas į ląstelių saugyklas. BKPyV DNR ir infekcinių virusų aptikimas SVG p12 linijose, gautose iš kai kurių kultūrų kolekcijų, sukėlė susirūpinimą dėl iš šių ląstelių gautų eksperimentinių duomenų patikimumo. Užteršimas neapima visų SVG kilusių linijų, nes klonai, tokie kaip SVG-A, buvo neigiami BKPyV atžvilgiu, o tai rodo, kad užteršimas įvyko ne ląstelių linijos kilmės metu, o tvarkymo ar platinimo metu.

Dėl savo įsitvirtinimo naudojimo ir stipraus reagavimo į poliomaviruso infekciją, SVG p12 lieka pagrindine priemone virusologijos tyrimuose, ypač žmogaus neurovirusologijos srityje. Nepaisant to, dabar rekomenduojama, kad šią ląstelių liniją naudojančios tyrėjos patikrintų, ar jų atsargose nėra BKPyV užteršimo, siekiant užtikrinti eksperimentų pakartojamumą ir duomenų patikimumą.

Organism Žmogus

Tissue Vaisiaus smegenys

Synonyms SVGp12, SVG(P12)

Charakteristikos

Age 8–12 nėštumo savaitė

Gender Vyras

Ethnicity Nenustatyta

Morphology Fibroblastai

Cell type Astrocitai

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

SVG p12 ląstelės | 305878

Citation	SVG p12 (Cytion katalogo numeris 305878)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3797
GMO Status	GMO-S1: Ši žmogaus vaisiaus glialinių ląstelių linija (SVG p12) turi SV40 didžiojo T antigeno sekas su ori mutacija ir yra papildomai užteršta BK poliomaviruso štamu UT, be tyčinio genetinio inžinerijos užteršimo. SV40 įterpimas yra stabiliai integruotas. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile	
---------------------------	--

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
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.

SVG p12 ląstelės | 305878

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

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 perkelti 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 perkelti į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

SVG p12 ląstelės | 305878

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.