

HSF (SV40) šūnas | 305338

Vispārīga informācija

Description

HSF(SV40) imortalizēta šūnu līnija attiecas uz šūnām, kas ir ģenētiski modificētas, lai ekspresētu Simian Virus 40 (SV40) lielo T-antigēnu (T-Ag), kas veicina šūnu imortalizāciju. SV40 T-Ag ir spēcīgs onkoproteīns, kas mijiedarbojas ar svarīgākajiem audzēju supresoru proteīniem, piemēram, p53 un retinoblastomas proteīnu (Rb), izraisot to audzējus nomācošo funkciju inaktivāciju. Šī mijiedarbība izjauc normālos šūnu cikla kontroles mehānismus, ļaujot šūnām apiet novecošanu un vairoties bezgalīgi.

Tā kā HSF(SV40) šūnas ir nemortalizētas un to transformācijā būtiski iesaistīts SV40 T-Ag, tās plaši izmanto vēža pētījumos, jo īpaši pētījumos, kas saistīti ar vīrusu onkoģenēzi, šūnu cikla regulāciju un terapeitiskām intervencēm, kas vērstas uz molekulārajiem šaperoniem un audzēju nomācošajiem ceļiem. To izmantošana sniedz vērtīgu ieskatu vīrusu onkoproteīnu un saimnieka šūnu regulējošo tīklu mijiedarbībā, paverot ceļu mērķtiecīgu vēža terapiju izstrādei.

Organism Cilvēks

Raksturojums

Morphology Fibroblastiem līdzīgs

Cell type Cilvēka liesas fibroblasts

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation HSF(SV40) (Cytion kataloga numurs 305338)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

GMO Status GMO-S1: Šī HSF fibroblastu līnija satur SV40 T-antigēna konstrukciju, kas ļauj veikt imortalizāciju ādas un saistaudu pētījumiem. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Darbs ar

HSF (SV40) šūnas | 305338

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS, 50 mikrogramu/ml askorbīnskābes

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

HSF (SV40) šūnas | 305338

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.