

SVG p12 šūnas | 305878

Vispārīga informācija

Description

SVG p12 ir cilvēka augļa gliozīdu šūnu līnija, kas sākotnēji iegūta no augļa smadzeņu audiem un imortalizēta, transformējot ar SV40 lielā T antigēna palīdzību. Tā ir plaši izmantota kā modelis neotropo poliovirusu, jo īpaši JC poliovirusa (JCPyV), pētīšanai, pateicoties tās gliozīdu izcelsmei un augstajai virālās infekcijas pieļaujamībai. SVG p12 saglabā astrocītu cilts raksturīgās īpašības un atbalsta produktīvu infekciju un JCPyV izplatīšanos, padarot to par standarta in vitro sistēmu vīrusu tropisma, replikācijas un patogēnēzes pētīšanai glijas šūnās.

Tomēr turpmāka analīze atklāja, ka SVG p12 bija inficēts ar BK poliomavīrusu (BKPyV) pēc noguldīšanas šūnu krātuvēs. BKPyV DNS un infekciozā vīrusa atklāšana SVG p12 līnijās, kas iegūtas no dažām kultūru kolekcijām, ir izraisījusi bažas par eksperimentālo datu integritāti, kas iegūti no šīm šūnām. Piesārņojums neattiecas uz visām SVG atvasinātajām līnijām, jo kloni, piemēram, SVG-A, ir testēti negatīvi attiecībā uz BKPyV, kas liecina, ka piesārņojums radās apstrādes vai izplatīšanas laikā, nevis šūnu līnijas sākotnējās atvasināšanas laikā.

Pateicoties tā plašajai izmantošanai un spēcīgajai reaģētspējai uz poliomavīrusa infekciju, SVG p12 joprojām ir galvenais instruments viroloģijas pētījumos, jo īpaši saistībā ar cilvēka neiroviroloģiju. Tomēr tagad pētniekiem, kuri izmanto šo šūnu līniju, ieteicams pārbaudīt, vai to krājumos nav BKPyV kontaminācijas, lai nodrošinātu eksperimentu reproducējamību un datu uzticamību.

Organism Cilvēks

Tissue Augļa smadzenes

Synonyms SVGp12, SVG(P12)

Raksturojums

Age 8–12 augļa nedēļa

Gender Vīrieši

Ethnicity Nav norādīts

Morphology Fibroblasti

Cell type Astrocīti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

SVG p12 šūnas | 305878

Citation	SVG p12 (Cytion kataloga numurs 305878)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3797
GMO Status	GMO-S1: Šī cilvēka augļa glijas šūnu līnija (SVG p12) satur SV40 Large T-antigēna sekvences ar ori mutāciju un ir papildus inficēta ar BK poliomasvīrusa celmu UT, bez apzinātas inficējošā faktora ģenētiskās manipulācijas. SV40 inserts ir stabili integrēts. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
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.

SVG p12 šūnas | 305878

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, 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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**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 pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.