

CV-1 šūnas | 605471

Vispārīga informācija

Description

CV-1 ir Āfrikas zaļo pērtiķu šūnu līnija, kas iegūta no nierēm 1964. gadā. Sākotnēji šo fibroblastiem līdzīgo šūnu līniju plaši izmantoja pētījumos, kas bija vērsti uz kancerogēnā Rousa sarkomas vīrusa (RSV) transformāciju, bet tagad to plaši izmanto bioloģiskos pētījumos vīrusu ražošanai, transfekcijai un gēnu slāpēšanai.

Šīs šūnas ir negatīvas pret reverso transkriptāzi un ir jutīgas pret vairākiem vīrusiem, tostarp poliovīrusu 1, herpes simplex, simpātisko vīrusu 40 (SV40), Kalifornijas encefalītu un gan austrumu, gan rietumu zirgu encefalītu.

CV-1 šūnu līnijai ir strauja augšana, tā aug uz plastmasas un stikla virsmām, un tai ir hromosomu skaita izmaiņas pie lieliem caurlaides līmeņiem. Novērots, ka CV-1 šūnām ir paaugstināta audzējamība Wistar žurkām, kas apstrādātas ar ATG, kā arī pastiprināta šūnu koloniju veidošanās mīkstajā agārā.

Turklāt CV-1 šūnas atbalsta SV40 vīrusa replikāciju un uzrāda strauju timidīnkināzes (TK) aktivitāti pēc tam, kad ir izraisīta simiāna, adeno un papovavīrusa infekcija. CV-1 šūnu kariotips ir $2n = 60$, pseidodiploīds. CV-1 šūnas ir izmantotas dažādiem specifiskiem lietojumiem bioloģiskajos pētījumos, tostarp efektivitātes testēšanai, transfekcijas saimniekam un viruscīdu testēšanai. Tās ir arī piemērotas saimnieks transfekcijai, jo īpaši ar SV40 vektoriem.

Organism Monkey

Tissue Nieres

Applications Piemērots saimnieks transfekcijai, īpaši ar SV40 vektoriem.

Synonyms Cv-1, CV 1, CV-1.K, CV-1.K, CV1

Raksturojums

Age 141 diena

Gender Vīrieši

Cell type Fibroblasti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation CV-1 (Cytion kataloga numurs 605471)

CV-1 šūnas | 605471

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9534**CellosaurusAccession** CVCL_0229**Biomolekulārie dati****Virus susceptibility** Poliovīruss 1, herpes simplex, austrumu zirgu encefalīts, rietumu zirgu encefalīts, Kalifornijas encefalīts, SV40**Reverse transcriptase** Negatīvs**Darbs ar****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Split ratio** Ieteicamā attiecība ir no 1:2 līdz 1:3**Seeding density** 3 līdz 4×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.**Fluid renewal** 2 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

CV-1 šūnas | 605471

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. 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$ 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.

Shipping Conditions

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

CV-1 šūnas | 605471

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 starposms 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.