

SV-80 šūnas | 300345

Vispārīga informācija

Description	Šo SV40 transformēto līniju sākotnēji izveidoja, izmantojot šūnas, kuras Todaro un citi 1963. gadā ieguva no pieaugušas sievietes ādas biopsijas (celms A), nevis no piecus mēnešus veca vīrieša augļa plaušu audiem (celms C). Pēc inficēšanās augošo koloniju morfoloģija mainījās tā, ka radās fibroblastiskas un epitēloīdas kolonijas. Visticamāk, ka apzīmējums, ka SV-80 izcelsme ir no plaušām, un pēc tam tas tika saglabāts, bija nederīgs. Tomēr šī šūnu līnija tiks raksturota sīkāk, ņemot vērā p53 antigēna un lielā T antigēna klātbūtni.
Organism	Cilvēks
Tissue	Āda
Disease	Normālas ādas fibroblasti (SV40 imortalizēti; netumorigēni)
Metastatic site	Neattiecas (parasta fibroblastu līnija; nav audzēja paraugs)
Applications	Pētījumi par DNS reparāciju; ar SV40 imortalizētu fibroblastu bioloģija; citogenētika; genotoksicitātes testēšana; normālu cilvēka fibroblastu etalons vēža salīdzinošajos pētījumos; SV40 lielā T antigēna bioloģija
Synonyms	SV-80, SV 80, SV-A klons 80, SV klons 80, Simian vīruss 80

Raksturojums

Age	Pieaugušo
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Fibroblasti
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	SV-80 (Cytion kataloga numurs 300345)
Biosafety level	1

SV-80 šūnas | 300345

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0541**GMO Status** GMO-S1: šī SV-80 cilvēka fibroblastu līnija satur SV40 T-antigēna sekvenču, kas ļauj veikt imortalizāciju DNS labošanas un citogenētikas pētījumiem. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Tumorigenic** SMRV: negatīvs, apstiprināts ar reālā laika PCR**Karyotype** Modālais skaits = 76, diapazons = 52 līdz 87**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 līdz 24 stundas**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** no 1 līdz 5**Seeding density** 3 līdz 5×10^3 šūnas/cm²**Fluid renewal** 1 līdz 2 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Fast

SV-80 šūnas | 300345

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.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

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

SV-80 šūnas | 300345

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 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.

STR profils

Amelogenin: x, y
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 9,13
D5S818: 12
D7S820: 10
TH01: 9
TPOX: 10,11
vWA: 16
D3S1358: 16
D21S11: 28,3
D18S51: 15,2
Penta E: 11,12
Penta D: 9
D8S1179: 11.15
FGA: 21,27

HLA alēles

A*: '02:01:01, '03:01:01
B*: '15:10:01, '45:01:01
C*: '03:04:02, '16:01:01
DRB1*: '10:01:01, '13:02:01
DQA1*: '01:02:01, '01:05:01
DQB1*: '05:01:01
DPB1*: '01:01:01, '04:02:01G
E: '01:01, '01:03