

Komórki CV-1 | 605471**Informacje ogólne****Description**

CV-1 to linia komórkowa afrykańskiej małpy zielonej uzyskana z nerki w 1964 roku. Początkowo wykorzystywana w badaniach, które koncentrowały się na transformacji rakotwórczego wirusa mięsaka Rousa (RSV), ta fibroblastopodobna linia komórkowa jest szeroko stosowana w badaniach biologicznych do produkcji wirusów, transfekcji i wyciszania genów.

Komórki te są ujemne pod względem odwrotnej transkryptazy i są podatne na kilka wirusów, w tym wirus polio 1, wirus opryszczki pospolitej, wirus małpy 40 (SV40), kalifornijskie zapalenie mózgu oraz wschodnie i zachodnie końskie zapalenie mózgu.

Linia komórkowa CV-1 wykazuje szybki wzrost, przylega do plastikowych i szklanych powierzchni i wykazuje zmiany liczby chromosomów na wysokich poziomach pasażowania. Zaobserwowano, że komórki CV-1 wykazują zwiększoną nowotworowość u szczurów Wistar leczonych ATG, a także zwiększone tworzenie kolonii komórek w miękkim agarze.

Co więcej, komórki CV-1 wspierają replikację wirusa SV40 i wykazują szybką aktywność kinazy tymidynowej (TK) po indukcji infekcji wirusami symian, adeno i papowavirus. Kariotyp komórek CV-1 wynosi $2n = 60$, pseudodiploidalny. Komórki CV-1 były wykorzystywane w różnych specyficznych zastosowaniach w badaniach biologicznych, w tym w testach skuteczności, transfekcji gospodarza i testach wirusobójczych. Znane są również jako odpowiedni gospodarz do transfekcji, zwłaszcza wektorami SV40.

Organism Małpa**Tissue** Nerka**Applications** Odpowiedni gospodarz do transfekcji, zwłaszcza wektorami SV40.**Synonyms** Cv-1, CV 1, CV-1.K, CV1**Charakterystyka****Age** 141 dni**Gender** Męczyzna**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Komórki CV-1 | 605471**Citation** CV-1 (numer katalogowy Cytion 605471)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9534**CellosaurusAccession** CVCL_0229**Dane biomolekularne****Virus susceptibility** Poliowirus 1, herpes simplex, wschodnie końskie zapalenie mózgu, zachodnie końskie zapalenie mózgu, kalifornijskie zapalenie mózgu, SV40**Reverse transcriptase** Negatywny**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:3**Seeding density** 3 do 4 x 10⁴ komórek/cm² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.**Fluid renewal** 2 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10⁴ komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Komórki CV-1 | 605471

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki CV-1 | 605471

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.