

Komórki SV-80 | 300345

Informacje ogólne

Description	Ta linia transformowana SV40 została pierwotnie wygenerowana przy użyciu komórek pochodzących z biopsji skóry dorosłej kobiety (szczep A) przez Todaro i wsp. w 1963 r., a nie z tkanki płucnej pięciomiesięcznego płodu płci męskiej (szczep C). Po zakażeniu morfologia rosnących kolonii zmieniła się w taki sposób, że powstały kolonie typu fibroblastycznego i nabłonkowego. Określenie, że SV-80 pochodzi z płuc, a następnie zachowane, najprawdopodobniej było nieprawidłowe. Jednak ta linia komórkowa będzie dalej charakteryzowana pod względem antygenu p53 i obecności dużego antygenu T.
Organism	Człowiek
Tissue	Skóra
Disease	Fibroblasty skóry normalnej (unieśmiertelizowane wirusem SV40; nie wywołujące nowotworów)
Metastatic site	Nie dotyczy (normalna linia fibroblastów; nie jest to próbka nowotworowa)
Applications	Badania nad naprawą DNA; biologia fibroblastów unieśmiertelionych wirusem SV40; cytogenetyka; badania genotoksyczności; normalne ludzkie fibroblasty jako materiał referencyjny w badaniach porównawczych dotyczących nowotworów; biologia dużego antygenu T wirusa SV40
Synonyms	SV-80, SV 80, SV-A klon 80, SV klon 80, Simian virus 80

Charakterystyka

Age	Dorosły
Gender	Kobieta
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Cell type	Fibroblast
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	SV-80 (numer katalogowy Cytion 300345)
-----------------	--

Komórki SV-80 | 300345**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0541**GMO Status** GMO-S1: Ta linia ludzkich fibroblastów SV-80 zawiera sekwencje antygenu SV40 T umożliwiające immortalizację w celu naprawy DNA i badań cytogenetycznych. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Tumorigenic** SMRV: Negatywny, potwierdzony przez Real-Time PCR**Karyotype** Liczba modalna = 76, zakres = 52 do 87**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 do 24 godzin**Subculturing** Usun 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. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** od 1 do 5**Seeding density** od 3 do 5 × 10³ komórek/cm²**Fluid renewal** 1 do 2 razy w tygodniu

Komórki SV-80 | 300345**Post-Thaw Recovery**

Szybko

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 probówki 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.**Flask Coating**

Brak

Komórki SV-80 | 300345

Freezing Procedure

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 wykluczone 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.

Profil STR

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

Komórki SV-80 | 300345

Allele HLA

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