

Células SV-80 | 300345

Informações gerais

Description Esta linha transformada em SV40 foi originalmente gerada utilizando células derivadas de uma biopsia cutânea de uma mulher adulta (estirpe A) por Todaro et al. em 1963, e não de tecido pulmonar de um feto masculino de cinco meses (estirpe C). Após a infecção, a morfologia das colônias em crescimento alterou-se, tendo sido produzidos tipos de colônias fibroblásticas e epitelóides. A designação da SV-80 como sendo de origem pulmonar, e depois mantida, era muito provavelmente inválida. No entanto, esta linha celular será caracterizada em termos do antígeno p53 e da presença do antígeno T grande.

Organism Humano

Tissue Pele

Synonyms SV-80, SV 80, SV-A clone 80, SV clone 80, vírus símio 80

Caraterísticas

Age Adulto

Gender Feminino

Ethnicity Caucasiano

Morphology De tipo epitelial

Cell type Fibroblastos

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation SV-80 (número de catálogo Cytion 300345)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0541

Células SV-80 | 300345

GMO Status OGM-S1: Esta linha de fibroblastos humanos SV-80 contém sequências de antígeno T da SV40 que permitem a imortalização para a reparação do ADN e a investigação citogenética. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Tumorigenic SMRV: Negativo, confirmado por PCR em tempo real

Karyotype Número modal = 76, intervalo = 52 a 87

Manuseamento

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 a 24 horas

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio Recomenda-se uma proporção de 1:3

Fluid renewal 1 a 2 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Rápido

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células SV-80 | 300345

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células SV-80 | 300345

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil 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: 11h15
FGA: 21,27

Alelos 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