

## Клетки SVI | 400495

## Обща информация

**Description** Клетъчната линия SVI е клонирана от израстъка на гломерули, изолирани от трансгенни мишки H-2kb-tsA58. Тези мишки носят температурно чувствителен вариант на големия Т антиген на SV40 под контрола на индуцирания от IFN-g промотор H-2kb. Клетките се размножават при 33 градуса по Целзий и се диференцират при 37 градуса по Целзий. Понастоящем клетките се култивират успешно в продължение на повече от 40 пасажа, без да се забелязват фенотипни промени. SVI са много подобни на E11 по отношение на морфологията и експресията на няколко маркера. Например podocin и WT1 се експресират в по-малка степен в сравнение с E11. Диференциация: Започнете процеса на диференциране, като поставите неконфлуентната колба(и) в инкубатор при 38 градуса по Целзий / 5 % CO2 за минимум 14 дни, за да завършите диференцирането. Не е необходимо добавянето на интерферон-гама (INF-гама).

**Organism** Мишка

**Tissue** Бъбреци

## Характеристики

**Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58) Immort

**Age** Възрастни

**Gender** Неуточнено

**Cell type** Подоцити

**Growth properties** Придържащи се

## Регулаторни данни

**Citation** SVI (каталожен номер на Cytion 400495)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_5943

## Клетки SVI | 400495

**GMO Status**

GMO-S1: Тази клетъчна линия от миши подоцити (SVI) съдържа условно активен трансген SV40 Large T-Antigen като част от модела ImmortoMouse, който поддържа температурно чувствителна имортализация. Конструктът е стабилно наличен в клетки, получени от подоцити. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

**Биомолекуларни данни****Protein expression**

WT1, Lmx1b, нефрин, NEPH1, FAT, P-кадерин, CD2AP, ZO-1, подокаликсин, подоплаин, синпо, подоцин, TRPC6 и GAPDH.

**Работа с****Culture Medium**

RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820700a)

**Supplements**

Допълнете средата с 10% FBS

**Dissociation Reagent**

Accutase

**Subculturing**

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Split ratio**

Препоръчва се съотношение от 1:3 до 1:5. При условия на диференциация, т.е. инкубация на култури от неконфлуентни до конфлуентни при 38 градуса Целзий, клетъчната пролиферация спира в рамките на първите две седмици и напълно престава след около четири седмици

**Seeding density**

Инокулирайте колби за клетъчна култура T75 с  $1 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup> (около 60 000 клетки/ml, 12 ml среда в една T75) за процеса на пролиферация. Поддържайте клетките при 33 градуса Целзий / 5% CO<sub>2</sub>, докато колбата стане около 75% конфлуентна.

**Fluid renewal**

3 пъти седмично

**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки SVI | 400495

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимицробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300\text{ x g}$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки SVI | 400495

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

### Профил на STR

**Amelogenin:** x,x