

Buňky SVI | 400495

Obecné informace

Description Buněčná linie SVI byla naklonována z výrůstků glomerulů, které byly izolovány z transgenních myší H-2kb-tsA58. Tyto myši nesou teplotně citlivou variantu velkého T antigenu SV40 pod kontrolou promotoru H-2kb indukovaného IFN-g. Buňky se množí při teplotě 33 °C a diferencují se při teplotě 37 °C. V současné době byly buňky úspěšně kultivovány po více než 40 pasáží, aniž by byly zaznamenány fenotypové změny. SVI jsou velmi podobné E11, pokud jde o morfologii a expresi několika markerů. Například podocin a WT1 jsou ve srovnání s E11 exprimovány v menší míře. Diferenciace: Diferenciační proces zahájíte umístěním nekonfluentní baňky (baněk) do inkubátoru při teplotě 38 °C / 5 % CO2 na dobu minimálně 14 dní, aby byla diferenciace dokončena. Přidání interferonu gama (INF-gamma) není nutné.

Organism Myš

Tissue Ledviny

Charakteristika

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

Age Dospělí

Gender Nespecifikováno

Cell type Podocyty

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation SVI (katalogové číslo Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Depositor Dr. N. Endlich

Buňky SVI | 400495

GMO Status	GMO-S1: Tato linie myších podocytů (SVI) obsahuje podmíněně aktivní transgen SV40 Large T-Antigen jako součást modelu ImmortoMouse, který podporuje teplotně citlivou immortalizaci. Konstrukt je stabilně přítomen v buňkách odvozených od podocytů. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.
-------------------	---

Biomolekulární data

Protein expression	WT1, Lmx1b, nefrin, NEPH1, FAT, P-kadherin, CD2AP, ZO-1, podokalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 a GAPDH.
---------------------------	--

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	---

Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:5. Za diferenciačních podmínek, tj. při inkubaci nekonfluentních kultur při teplotě 38 °C, se proliferace buněk zastaví během prvních dvou týdnů a ustane přibližně po čtyřech týdnech
--------------------	---

Seeding density	Naočkujte kultivační lahve T75 1x 10 ⁴ buňkami/cm ² (přibližně 60 000 buněk/ml, 12 ml média v jedné lahvi T75) pro proces proliferace. Udržujte buňky při teplotě 33 °C / 5 % CO ₂ , dokud není lahev asi z 75 % konfluentní.
------------------------	--

Fluid renewal	3krát týdně
----------------------	-------------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
----------------------	--

Buňky SVI | 400495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

33 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky SVI | 400495

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x