

SVI-celler | 400495

General information

Description SVI-cellelinjen er blevet klonet fra udvæksten af glomeruli, som blev isoleret fra H-2kb-tsA58-transgene mus. Musene bærer en temperaturfølsom variant af SV40 large T-antigenet under kontrol af den IFN-g-inducerbare H-2kb-promotor. Cellerne formerer sig ved 33 grader Celsius, og de differentierer sig ved 37 grader Celsius. På nuværende tidspunkt er cellerne blevet dyrket med succes i mere end 40 passager uden at bemærke fænotypiske ændringer. SVI ligner meget E11 med hensyn til morfologi og udtrykket af flere markører. For eksempel udtrykkes podocin og WT1 i mindre grad sammenlignet med E11. Differentiering: Start differentieringsprocessen ved at placere de ikke-flydende kolber i en inkubator ved 38 grader Celsius / 5 % CO₂ i mindst 14 dage for at fuldføre differentieringen. Tilsætning af interferon-gamma (INF-gamma) er ikke nødvendig.

Organism Mus

Tissue Nyre

Karakteristika

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

Age Voksen

Gender Uspecificeret

Cell type Podocyt

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation SVI (Cytion katalognummer 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

SVI-celler | 400495

GMO Status	GMO-S1: Denne murine podocytcellelinje (SVI) indeholder et betinget aktivt SV40 Large T-Antigen-transgen som en del af ImmortoMouse-modellen, der understøtter temperaturfølsom udødeliggørelse. Konstruktionen er stabilt til stede i podocyt-afledte celler. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.
-------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Biomolekylære data

Protein expression	WT1, Lmx1b, nephrin, NEPH1, FAT, P-cadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 og GAPDH.
---------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
-----------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
--------------------	----------------------------

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

Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
---------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Seeding density	Inokulér T75-cellekulturflasker med 1×10^4 celler/cm ² (ca. 60.000 celler/ml, 12 ml medium i en T75) til proliferationsprocessen. Opbevar cellerne ved 33 °C / 5 % CO ₂ , indtil flasken er ca. 75 % konfluent.
------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fluid renewal	3 gange om ugen
----------------------	-----------------

Freeze medium	Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.
----------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

SVI-celler | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

SVI-celler | 400495

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.