

SVI-Zellen | 400495

Allgemeine Informationen

Description Die SVI-Zelllinie wurde aus dem Auswuchs von Glomeruli geklont, die aus H-2kb-tsA58 transgenen Mäusen isoliert wurden. Die Mäuse tragen eine temperaturempfindliche Variante des SV40 large T-Antigens unter Kontrolle des IFN-g-induzierbaren H-2kb-Promotors. Die Zellen vermehren sich bei 33 Grad Celsius, und sie differenzieren sich bei 37 Grad Celsius. Derzeit werden die Zellen erfolgreich über mehr als 40 Passagen kultiviert, ohne dass phänotypische Veränderungen festgestellt werden. SVI sind E11 in Bezug auf die Morphologie und die Expression verschiedener Marker sehr ähnlich. So werden beispielsweise Podocin und WT1 im Vergleich zu E11 in geringerem Maße exprimiert. Differenzierung: Beginnen Sie den Differenzierungsprozess, indem Sie die nicht-konfluenten Kolben für mindestens 14 Tage in einen Inkubator bei 38 Grad Celsius / 5% CO2 stellen, um die Differenzierung abzuschließen. Die Zugabe von Interferon-gamma (INF-gamma) ist nicht erforderlich.

Organism Maus

Tissue Niere

Merkmale

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

Age Erwachsener

Gender Nicht spezifiziert

Cell type Podozyten

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation SVI (Cytion-Katalognummer 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Depositor Dr. N. Endlich

SVI-Zellen | 400495

GMO Status

GMO-S1: Diese murine Podozyten-Zelllinie (SVI) enthält ein bedingt aktives SV40 Large T-Antigen-Transgen als Teil des ImmortoMouse-Modells, das die temperatursensitive Immortalisierung unterstützt. Das Konstrukt ist stabil in aus Podozyten gewonnenen Zellen vorhanden. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten**Protein expression**

WT1, Lmx1b, Nephritin, NEPH1, FAT, P-Cadherin, CD2AP, ZO-1, Podocalyxin, Podoplanin, Synpo, Podocin, TRPC6 und GAPDH.

Handhabung**Culture Medium**

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)

Supplements

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio

Ein Verhältnis von 1:3 bis 1:5 wird empfohlen. Unter Differenzierungsbedingungen, d. h. Bebrütung von nicht konfluenten Kulturen bei 38 Grad Celsius, hört die Zellvermehrung innerhalb der ersten zwei Wochen auf und kommt nach etwa vier Wochen zum Stillstand

Seeding density

Impfen Sie T75-Zellkulturflaschen mit 1×10^4 Zellen/cm² (etwa 60.000 Zellen/ml, 12 ml Medium in einer T75) für den Proliferationsprozess. Halten Sie die Zellen bei 33 Grad Celsius / 5 % CO₂, bis die Flasche zu etwa 75 % konfluent ist.

Fluid renewal

3 Mal pro Woche

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

SVI-Zellen | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

33°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SVI-Zellen | 400495

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,x