

Κύτταρα SVI | 400495

Γενικές πληροφορίες

Description Η κυτταρική σειρά SVI έχει κλωνοποιηθεί από την έκφυση των σπειραμάτων που απομονώθηκαν από διαγονιδιακά ποντίκια H-2kb-tsA58. Τα ποντίκια φέρουν μια ευαίσθητη στη θερμοκρασία παραλλαγή του μεγάλου αντιγόνου SV40 T υπό τον έλεγχο του επαγωγίμου από την IFN-g υποκινητή H-2kb. Τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται στους 33 βαθμούς Κελσίου και διαφοροποιούνται στους 37 βαθμούς Κελσίου. Επί του παρόντος, τα κύτταρα έχουν καλλιεργηθεί με επιτυχία για περισσότερα από 40 περάσματα χωρίς να παρατηρηθούν φαινοτυπικές αλλαγές. Τα SVI μοιάζουν πολύ με τα E11 όσον αφορά τη μορφολογία και την έκφραση διαφόρων δεικτών. Για παράδειγμα, η ποδοκίνη και ο WT1 εκφράζονται σε μικρότερο βαθμό σε σύγκριση με το E11. Διαφοροποίηση: Ξεκινήστε τη διαδικασία διαφοροποίησης με την τοποθέτηση της(των) μη ρέουσας(ών) φιάλης(ών) σε επωαστήρα στους 38 βαθμούς Κελσίου / 5% CO2 για τουλάχιστον 14 ημέρες για να ολοκληρωθεί η διαφοροποίηση. Η προσθήκη ιντερφερόνης-γάμμα (INF-γάμμα) δεν είναι απαραίτητη.

Organism Ποντίκι

Tissue Νεφρός

Χαρακτηριστικά

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

Age Ενηλίκων

Gender Απροσδιόριστο

Cell type Ποδοκύτταρα

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation SVI (αριθμός καταλόγου Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Κύτταρα SVI | 400495

GMO Status	GMO-S1: Αυτή η γραμμή κυττάρων ποδοκυττάρων ποντικού (SVI) περιέχει ένα υπό όρους ενεργό διαγονίδιο SV40 Large T-Antigen ως μέρος του μοντέλου ImmortoMouse, υποστηρίζοντας την ευαίσθητη στη θερμοκρασία αθανασία. Το κατασκεύασμα είναι σταθερά παρόν σε κύτταρα που προέρχονται από ποδοκύτταρα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.
-------------------	--

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
---------------------	--

Seeding density	Εμβολιάστε φιάλες καλλιέργειας κυττάρων T75 με 1×10^4 κύτταρα/cm ² (περίπου 60.000 κύτταρα/ml, 12 ml μέσου σε μία T75) για τη διαδικασία πολλαπλασιασμού. Διατηρήστε τα κύτταρα σε θερμοκρασία 33 βαθμών Κελσίου / 5% CO ₂ , έως ότου η φιάλη είναι περίπου 75% συγκεντρωμένη.
------------------------	---

Fluid renewal	3 φορές την εβδομάδα
----------------------	----------------------

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.
----------------------	---

Κύτταρα SVI | 400495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

33°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα SVI | 400495

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.