

SVI rakud | 400495

Üldine teave

Description SVI rakuliin on kloonitud H-2kb-tsA58 transgeensetest hiirtest isoleeritud glomerulide kasvust. Need hiired kannavad SV40 suure T antigeeni temperatuuritundlikku varianti IFN-g-indutseeritava H-2kb promootori kontrolli all. Rakud paljunevad 33 °C juures ja diferentseeruvad 37 °C juures. Praegu on rakke edukalt kasvatatud rohkem kui 40 läbimise ajal, ilma et oleks täheldatud fenotüüpseid muutusi. SVI on morfoloogia ja mitmete markerite ekspressiooni poolest väga sarnased E11-ga. Näiteks podocin ja WT1 on E11-ga võrreldes vähem ekspresseeritud. Diferentseerumine: Alustage diferentseerimisprotsessi, asetades mitte-confluentseid kolvid inkubaatorisse 38 kraadi Celsiuse järgi / 5% CO2 vähemalt 14 päevaks, et diferentseerumine oleks lõpule viidud. Interferoon-gamma (INF-gamma) lisamine ei ole vajalik.

Organism Hiir

Tissue Neerud

Omadused

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

Age Täiskasvanud

Gender Täpsustamata

Cell type Podotsüüdid

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation SVI (Cytioni katalooginumber 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

GMO Status GMO-S1: See hiirte podotsüütide rakuliin (SVI) sisaldab tingimuslikult aktiivset SV40 Large T-Antigeeni transgeeni kui osa ImmortoMouse mudelist, mis toetab temperatuuritundlikku immortaliseerimist. Konstruksioon on stabiilselt olemas podotsüütidest saadud rakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

SVI rakud | 400495

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression WT1, Lmx1b, nefriin, NEPH1, FAT, P-kadheriin, CD2AP, ZO-1, podokalüksin, podoplaaniin, sünpo, podokiin, TRPC6 ja GAPDH.

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio Soovitav on suhe 1:3 kuni 1:5. Diferentseerumistingimustes, st kui inkubeeritakse hõredaid kuni tihedaid kultuure 38 °C juures, peatub rakkude paljunemine esimese kahe nädala jooksul ja lõpeb umbes nelja nädala pärast

Seeding density Inokuleerige T75 rakukultuuri kolvid 1×10^4 rakuga/cm² (umbes 60 000 rakku/ml, 12 ml keskkonda ühes T75-s) proliferatsiooni protsessi jaoks. Hoidke rakke 33 °C juures / 5% CO₂-s, kuni kolv on umbes 75% konfluentne.

Fluid renewal 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SVI rakud | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SVI rakud | 400495

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

Amelogenin: x,x