

SVI-kennot | 400495

Yleisiä tietoja

Description SVI-solulinja on kloonattu H-2kb-tsA58-transgeenisistä hiiristä eristetyistä glomerulista. Hiiret kantavat SV40 large T -antigeenin lämpötilaherkkää muunnosta IFN-g-indusoituvan H-2kb-promoottorin ohjaamana. Solut lisääntyvät 33 celsiusasteen lämpötilassa ja erilaistuvat 37 celsiusasteen lämpötilassa. Tällä hetkellä soluja on viljelty onnistuneesti yli 40 läpiviennin ajan ilman fenotyypisiä muutoksia. SVI on morfologialtaan ja useiden merkkiaineiden ilmentymiseltään hyvin samankaltainen kuin E11. Esimerkiksi podosiinia ja WT1:tä ilmentyy vähemmän kuin E11:ssä. Erilaistuminen: Aloitetaan erilaistumisprosessi asettamalla ei-konfluentti pullo(t) inkubaattoriin 38 celsiusasteen lämpötilassa / 5 % CO₂:ssa vähintään 14 päiväksi erilaistumisen loppuun saattamiseksi. Interferoni-gamman (INF-gamma) lisääminen ei ole tarpeen.

Organism Hiiri

Tissue Munuaiset

Ominaisuudet

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

Age Aikuiset

Gender Määrittelemätön

Cell type Podosyytti

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation SVI (Cytionin luettelonumero 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

GMO Status GMO-S1: Tämä hiiren podosyyttisolulinja (SVI) sisältää ehdollisesti aktiivisen SV40 Large T-Antigeenin transgeenin osana ImmortoMouse-mallia, joka tukee lämpötilaherkkää kuolematomuutta. Konstruktio on stabiilisti läsnä podosyyttiperäisissä soluissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

SVI-kennot | 400495

Biomolekyylitiedot

Protein expression WT1, Lmx1b, nefriini, NEPH1, FAT, P-kadheriini, CD2AP, ZO-1, podokalyksiini, podoplaniini, synpo, podosiini, TRPC6 ja GAPDH.

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Split ratio Suositeltava suhde on 1:3–1:5. Erileistumisolosuhteissa, eli kun viljelmiä inkuboidaan 38 celsiusasteessa, kunnes ne ovat täyttyneet, solujen lisääntyminen hidastuu kahden ensimmäisen viikon aikana ja pysähtyy noin neljän viikon kuluttua

Seeding density Inokuloidaan T75-soluviljelypulloihin 1×10^4 solua/cm² (noin 60 000 solua/ml, 12 ml väliainetta yhdessä T75-pullossa) proliferaatioprosessia varten. Soluja pidetään 33 celsiusasteessa / 5 % CO₂:ssa, kunnes pullo on noin 75 % konfluentti.

Fluid renewal 3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

SVI-kennot | 400495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

33 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

SVI-kennot | 400495

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

Amelogenin: x,x