

Cellules SVI | 400495

Informations générales

Description La lignée cellulaire SVI a été clonée à partir de l'excroissance de glomérules isolés chez des souris transgéniques H-2kb-tsA58. Ces souris sont porteuses d'une variante thermosensible de l'antigène SV40 large T sous le contrôle du promoteur H-2kb inducible par l'IFN. Les cellules prolifèrent à 33 degrés Celsius et se différencient à 37 degrés Celsius. À l'heure actuelle, les cellules ont été cultivées avec succès pendant plus de 40 passages sans qu'aucun changement phénotypique n'ait été observé. Les SVI sont très similaires aux E11 en termes de morphologie et d'expression de plusieurs marqueurs. Par exemple, la podocine et le WT1 sont exprimés dans une moindre mesure par rapport à l'E11. Différenciation : Commencer le processus de différenciation en plaçant le(s) flacon(s) non confluents dans un incubateur à 38 degrés Celsius / 5% CO2 pendant un minimum de 14 jours pour compléter la différenciation. L'ajout d'interféron-gamma (INF-gamma) n'est pas nécessaire.

Organism Souris

Tissue Rein

Caractéristiques

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

Age Adulte

Gender Non spécifié

Cell type Podocyte

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation SVI (numéro de catalogue Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Depositor Dr. N. Endlich

Cellules SVI | 400495

GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée cellulaire murine de podocytes (SVI) contient un transgène SV40 Large T-Antigen conditionnellement actif dans le cadre du modèle ImmortoMouse, permettant une immortalisation sensible à la température. La construction est présente de manière stable dans les cellules dérivées des podocytes. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.
-------------------	--

Données biomoléculaires

Protein expression	WT1, Lmx1b, néphrine, NEPH1, FAT, P-cadhérine, CD2AP, ZO-1, podocalyxine, podoplanine, synpo, podocine, TRPC6 et GAPDH.
---------------------------	---

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
--------------------	-------------------------------------

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

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
---------------------	--

Split ratio	Un rapport de 1:3 à 1:5 est recommandé Dans des conditions de différenciation, c'est-à-dire l'incubation de cultures non confluentes à 38 degrés Celsius, la prolifération cellulaire cesse dans les deux premières semaines et s'arrête après environ quatre semaines
--------------------	--

Seeding density	Inoculer les flacons de culture cellulaire T75 avec 1×10^4 cellules/cm ² (environ 60 000 cellules/ml, 12 ml de milieu dans un T75) pour le processus de prolifération. Maintenir les cellules à 33 °C / 5 % de CO ₂ , jusqu'à ce que le flacon soit confluent à environ 75 %.
------------------------	--

Fluid renewal	3 fois par semaine
----------------------	--------------------

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.
----------------------	---

Cellules SVI | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

33°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules SVI | 400495

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x,x