

Sel SVI | 400495

Informasi umum

Description Garis sel SVI telah dikloning dari pertumbuhan glomeruli yang diisolasi dari tikus transgenik H-2kb-tsA58. Tikus-tikus tersebut membawa varian yang peka terhadap suhu dari antigen T besar SV40 yang berada di bawah kendali promotor H-2kb yang dapat diinduksi IFN-g. Sel berkembang biak pada suhu 33 derajat Celcius, dan berdiferensiasi pada suhu 37 derajat Celcius. Saat ini, sel telah berhasil dikultur selama lebih dari 40 kali tanpa mencatat perubahan fenotipik. SVI sangat mirip dengan E11 dalam hal morfologi dan ekspresi beberapa penanda. Misalnya, podocin dan WT1 diekspresikan pada tingkat yang lebih rendah dibandingkan dengan E11. Diferensiasi: Mulailah proses diferensiasi dengan menempatkan labu yang tidak mengalir ke dalam inkubator pada suhu 38 derajat Celcius / 5% CO2 selama minimal 14 hari untuk menyelesaikan diferensiasi. Penambahan interferon-gamma (INF-gamma) tidak diperlukan.

Organism Mouse

Tissue Ginjal

Karakteristik

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

Age Dewasa

Gender Tidak ditentukan

Cell type Podocyte

Growth properties Patuh

Data Peraturan

Citation SVI (nomor katalog Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Sel SVI | 400495

GMO Status GMO-S1: Garis sel podosit murin (SVI) ini mengandung transgen SV40 Large T-Antigen yang aktif secara kondisional sebagai bagian dari model ImmortoMouse, yang mendukung pengawetan yang peka terhadap suhu. Konstruk ini secara stabil hadir dalam sel turunan podosit. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

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

Penanganan

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Nomor artikel Cytion 820700a)

Supplements Tambahkan media dengan 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Split ratio Rasio yang disarankan adalah 1:3 hingga 1:5. Dalam kondisi diferensiasi, yaitu inkubasi kultur sel yang belum padat hingga mencapai kepadatan maksimum pada suhu 38 derajat Celsius, proliferasi sel akan berhenti dalam dua minggu pertama dan berhenti sepenuhnya setelah sekitar empat minggu

Seeding density Inokulasikan flask kultur sel T75 dengan 1×10^4 sel/cm² (sekitar 60.000 sel/ml, 12 ml medium dalam satu flask T75) untuk proses proliferasi. Jaga sel pada suhu 33 derajat Celsius / 5% CO₂, hingga flask mencapai sekitar 75% konfluen.

Fluid renewal 3 kali per minggu

Freeze medium Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel SVI | 400495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation
Atmosphere**

33°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

**Freezing
Procedure**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Shipping
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel SVI | 400495

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Profil STR

Amelogenin: x,x