

## Celle SVI | 400495

## Informazioni generali

**Description** La linea cellulare SVI è stata clonata dall'escrescenza di glomeruli isolati da topi transgenici H-2kb-tsA58. Questi topi sono portatori di una variante sensibile alla temperatura dell'antigene SV40 large T, sotto il controllo del promotore H-2kb, inducibile dall'IFN. Le cellule proliferano a 33 gradi Celsius e si differenziano a 37 gradi Celsius. Attualmente, le cellule sono state coltivate con successo per più di 40 passaggi senza notare cambiamenti fenotipici. Le SVI sono molto simili alle E11 in termini di morfologia e di espressione di diversi marcatori. Ad esempio, la podocina e il WT1 sono espressi in misura minore rispetto all'E11. Differenziamento: Iniziare il processo di differenziazione ponendo le fiaschette non confluenti in un incubatore a 38 gradi Celsius / 5% CO2 per un minimo di 14 giorni per completare la differenziazione. L'aggiunta di interferone-gamma (INF-gamma) non è necessaria.

**Organism** Mouse

**Tissue** Rene

## Caratteristiche

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

**Age** Adulti

**Gender** Non specificato

**Cell type** Podocita

**Growth properties** Aderente

## Dati normativi

**Citation** SVI (numero di catalogo Cytion 400495)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_5943

**Depositor** Dr. N. Endlich

## Celle SVI | 400495

**GMO Status** GMO-S1: questa linea cellulare di podociti murini (SVI) contiene un transgene SV40 Large T-Antigen condizionalmente attivo come parte del modello ImmortoMouse, che supporta l'immortalizzazione sensibile alla temperatura. Il costrutto è stabilmente presente nelle cellule derivate dai podociti. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.

**Dati biomolecolari**

**Protein expression** WT1, Lmx1b, nefrina, NEPH1, FAT, P-caderina, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanina, synpo, podocin, TRPC6 e GAPDH.

**Manipolazione**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO<sub>3</sub> (articolo Cytion numero 820700a)

**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

**Split ratio** Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:5 In condizioni di differenziazione, cioè incubazione di colture non confluenti a 38 gradi Celsius, la proliferazione cellulare cessa entro le prime due settimane e si arresta dopo circa quattro settimane

**Seeding density** Inoculare le fiasche di coltura cellulare T75 con  $1 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup> (circa 60.000 cellule/ml, 12 ml di terreno in una T75) per il processo di proliferazione. Mantenere le cellule a 33 °C / 5% di CO<sub>2</sub>, fino a quando la fiasca non raggiunge una confluenza del 75% circa.

**Fluid renewal** 3 volte a settimana

**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Celle SVI | 400495

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

33°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Celle SVI | 400495**

**Storage  
Conditions**

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

**Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA**

**Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

**Profilo STR**

**Amelogenin:** x,x