

SVI ląstelės | 400495

Bendra informacija

Description SVI ląstelių linija buvo klonuota iš glomerulų, išskirtų iš H-2kb-tsA58 transgeninių pelių, ataugų. Šios pelės turi temperatūrai jautrų SV40 didžiojo T antigeno variantą, kontroliuojamą IFN-g indukuojamo H-2kb promotoriaus. Ląstelės dauginasi 33 laipsnių Celsijaus temperatūroje, o diferencijuojasi 37 laipsnių Celsijaus temperatūroje. Šiuo metu ląstelės sėkmingai kultivuojamos daugiau kaip 40 kartų, nepastebint fenotipo pokyčių. SVI yra labai panašios į E11 pagal morfologiją ir kelių žymenų raišką. Pavyzdžiui, podocino ir WT1 raiška yra mažesnė, palyginti su E11. Diferenciacija: Diferenciacijos procesą pradėkite įdėdami nekonfliktišką (-as) kolbą (-as) į inkubatorių 38 laipsnių Celsijaus temperatūroje / 5 % CO2 mažiausiai 14 dienų, kad diferenciacija būtų baigta. Interferono gama (INF-gama) pridėti nebūtina.

Organism Pelė

Tissue Inkstai

Charakteristikos

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

Age Suaugusiųjų

Gender Nenustatyta

Cell type Podocitai

Growth properties Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation SVI (Cytion katalogo numeris 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

GMO Status GMO-S1: Šioje pelių podocitų ląstelių linijoje (SVI) yra sąlygiškai aktyvus SV40 Large T-Antigen transgenas, kuris yra "ImmortoMouse" modelio dalis, palaikanti temperatūrai jautrią imortalizaciją. Šis konstruktas stabiliai veikia iš podocitų gautose ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

SVI ląstelės | 400495

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression WT1, Lmx1b, nefrinas, NEPH1, FAT, P-kadherinas, CD2AP, ZO-1, podokalikinas, podoplaninas, sinpo, podocinas, TRPC6 ir GAPDH.

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio Rekomenduojamas santykis nuo 1:3 iki 1:5. Diferenciacijos sąlygomis, t. y. inkubuojant nesusijungusias ar susijungusias kultūras 38 °C temperatūroje, ląstelių proliferacija sulėtėja per pirmąsias dvi savaites ir visiškai sustabdo po maždaug keturių savaičių

Seeding density T75 ląstelių kultūros kolbose įskiepykite 1×10^4 ląsteles/cm² (apie 60 000 ląstelių/ml, 12 ml terpės vienoje T75) proliferacijos procesui. Laikykite ląsteles 33 °C temperatūroje / 5 % CO₂, kol kolba bus užpildyta apie 75 %.

Fluid renewal 3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

SVI ląstelės | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

SVI ląstelės | 400495

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

Amelogenin: x,x