

SVI-cellen | 400495

Algemene informatie

Description De SVI-celijn is gekloond uit de uitgroei van glomeruli die geïsoleerd zijn uit H-2kb-tsA58 transgene muizen. De muizen dragen een temperatuurgevoelige variant van het SV40 groot T-antigeen onder controle van de IFN-g-induceerbare H-2kb-promotor. De cellen prolifereren bij 33 graden Celsius en differentiëren bij 37 graden Celsius. Op dit moment zijn de cellen met succes gekweekt voor meer dan 40 passages zonder fenotypische veranderingen. SVI lijken sterk op E11 wat betreft morfologie en expressie van verschillende markers. Podocine en WT1 komen bijvoorbeeld in mindere mate tot expressie dan bij E11. Differentiatie: Start het differentiatieproces door de niet-confluente erlenmeyers gedurende minimaal 14 dagen in een incubator bij 38 graden Celsius / 5% CO₂ te plaatsen om de differentiatie te voltooien. Toevoeging van interferongamma (INF-gamma) is niet nodig.

Organism Muis

Tissue Nieren

Kenmerken

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

Age Volwassen

Gender Ongespecificeerd

Cell type Podocyten

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation SVI (Cytion catalogusnummer 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Depositor Dr. N. Endlich

SVI-cellen | 400495

GMO Status GMO-S1: Deze murine podocytenlijn (SVI) bevat een conditioneel actief SV40-groot T-antigeentransgen als onderdeel van het ImmortoMouse-model, dat temperatuurgevoelige immortalisatie ondersteunt. Het construct is stabiel aanwezig in van podocyten afgeleide cellen. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression WT1, Lmx1b, nephrin, NEPH1, FAT, P-cadherine, CD2AP, ZO-1, podocalyxine, podoplanine, synpo, podocine, TRPC6 en GAPDH.

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:3 tot 1:5 wordt aanbevolen. Onder differentiatieomstandigheden, d.w.z. incubatie van niet tot confluente culturen bij 38 graden Celsius, stopt de celproliferatie binnen de eerste twee weken en na ongeveer vier weken.

Seeding density Inoculeer T75-celkweekflessen met 1×10^4 cellen/cm² (ongeveer 60.000 cellen/ml, 12 ml medium in één T75) voor het proliferatieproces. Bewaar de cellen bij 33 graden Celsius / 5% CO₂, totdat de fles voor ongeveer 75% confluent is.

Fluid renewal 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

SVI-cellen | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

SVI-cellen | 400495

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x