

SVI-celler | 400495

Generell informasjon

Description SVI-cellelinjen er klonet fra utveksten av glomeruli som ble isolert fra H-2kb-tsA58-transgene mus. Musene bærer en temperaturfølsom variant av SV40 large T-antigenet under kontroll av den IFN-g-inducerbare H-2kb-promotoren. Cellene formerer seg ved 33 grader Celsius, og de differensierer ved 37 grader Celsius. Cellene har blitt dyrket i mer enn 40 passasjer uten at det har skjedd fenotypiske endringer. SVI er svært like E11 når det gjelder morfologi og uttrykk av flere markører. For eksempel uttrykkes podocin og WT1 i mindre grad sammenlignet med E11. Differensiering: Start differensieringsprosessen ved å plassere de ikke-flytende kolbene i en inkubator ved 38 grader Celsius / 5 % CO₂ i minst 14 dager for å fullføre differensieringen. Tilsetning av interferon-gamma (INF-gamma) er ikke nødvendig.

Organism Mus

Tissue Nyre

Kjennetegn

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

Age Voksen

Gender Uspesifisert

Cell type Podocyt

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation SVI (Cytion-katalognummer 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Depositor Dr. N. Endlich

SVI-celler | 400495

GMO Status	GMO-S1: Denne podocyttcellelinjen fra mus (SVI) inneholder et betinget aktivt SV40 Large T-antigen-transgen som en del av ImmortoMouse-modellen, som støtter temperaturfølsom udødeliggjøring. Konstruktet er stabilt til stede i podocyttavlede celler. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.
-------------------	--

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
--------------------	-----------------------------

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

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
---------------------	--

Split ratio	Et forhold på 1:3 til 1:5 anbefales Under differensieringsforhold, dvs. inkubering av ikke-konfluerende til konfluente kulturer ved 38 grader Celsius, opphører celleproliferasjonen i løpet av de første to ukene og stanser etter ca. fire uker
--------------------	---

Seeding density	Inokulere T75-cellekulturflasker med 1×10^4 celler/cm ² (ca. 60 000 celler/ml, 12 ml medium i en T75) for proliferasjonsprosessen. Hold cellene ved 33 grader Celsius / 5 % CO ₂ , til flasken er ca. 75 % konfluent.
------------------------	--

Fluid renewal	3 ganger per uke
----------------------	------------------

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.
----------------------	---

SVI-celler | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

SVI-celler | 400495

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x