

Komórki SVI | 400495

Informacje ogólne

Description Linia komórkowa SVI została sklonowana z wyrostka kłębuszków nerkowych, które zostały wyizolowane z transgenicznych myszy H-2kb-tsA58. Myszy te są nosicielami wrażliwego na temperaturę wariantu antygeny SV40 large T pod kontrolą promotora H-2kb indukowanego przez IFN-g. Komórki proliferują w temperaturze 33 stopni Celsjusza i różnicują się w temperaturze 37 stopni Celsjusza. Obecnie komórki były z powodzeniem hodowane przez ponad 40 pasaży bez odnotowania zmian fenotypowych. SVI są bardzo podobne do E11 pod względem morfologii i ekspresji kilku markerów. Na przykład podocyna i WT1 są wyrażane w mniejszym stopniu w porównaniu do E11. Różnicowanie: Rozpocząć proces różnicowania poprzez umieszczenie kolby (kolb) w inkubatorze w temperaturze 38 stopni Celsjusza / 5% CO2 na co najmniej 14 dni w celu zakończenia różnicowania. Dodanie interferonu-gamma (INF-gamma) nie jest konieczne.

Organism Mysz

Tissue Nerka

Charakterystyka

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

Age Dorosły

Gender Nieokreślony

Cell type Podocyt

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation SVI (numer katalogowy Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Depositor Dr N. Endlich

Komórki SVI | 400495

GMO Status GMO-S1: Ta linia komórek podocytów mysich (SVI) zawiera warunkowo aktywny transgen SV40 Large T-Antigen jako część modelu ImmortoMouse, wspierając immortalizację wrażliwą na temperaturę. Konstrukct jest stabilnie obecny w komórkach pochodzących z podocytów. Ta klasyfikacja ma zastosowanie wyłącznie w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression WT1, Lmx1b, nefryna, NEPH1, FAT, P-kadheryna, CD2AP, ZO-1, podokaliksyna, podoplanina, synpo, podocyna, TRPC6 i GAPDH.

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zaleca się stosunek od 1:3 do 1:5 w warunkach różnicowania, tj. inkubacji hodowli w temperaturze 38 stopni Celsjusza, proliferacja komórek ustaje w ciągu pierwszych dwóch tygodni i zatrzymuje się po około czterech tygodniach

Seeding density W celu przeprowadzenia procesu proliferacji zaszczepić kolby hodowlane T75 komórkami w stężeniu 1×10^4 komórek/cm² (około 60 000 komórek/ml, 12 ml pożywki w jednej kolbie T75). Komórki należy przechowywać w temperaturze 33°C / 5% CO₂, aż do osiągnięcia około 75% konfluencji w kolbie.

Fluid renewal 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki SVI | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

33°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki SVI | 400495

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x