

Células SVI | 400495

Informações gerais

Description A linha celular SVI foi clonada a partir do crescimento de glomérulos que foram isolados de ratinhos transgênicos H-2kb-tsA58. Os ratinhos transportam uma variante sensível à temperatura do antígeno SV40 large T sob controle do promotor H-2kb induzido por IFN-g. As células proliferam a 33 graus Celsius e diferenciam-se a 37 graus Celsius. Atualmente, as células têm sido cultivadas com sucesso durante mais de 40 passagens sem se observarem alterações fenotípicas. As SVI são muito semelhantes às E11 em termos de morfologia e expressão de vários marcadores. Por exemplo, a podocina e o WT1 são expressos em menor grau em comparação com o E11. Diferenciação: Iniciar o processo de diferenciação colocando o(s) frasco(s) não confluyente(s) numa incubadora a 38 graus Celsius / 5% CO2 durante um mínimo de 14 dias para completar a diferenciação. Não é necessária a adição de interferão-gama (INF-gama).

Organism Rato

Tissue Rim

Caraterísticas

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

Age Adulto

Gender Não especificado

Cell type Podocitos

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation SVI (número de catálogo Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Células SVI | 400495

GMO Status OGM-S1: Esta linha celular de podócitos murinos (SVI) contém um transgene de antígeno T grande do SV40 condicionalmente ativo como parte do modelo ImmortoMouse, que suporta a imortalização sensível à temperatura. A construção está presente de forma estável em células derivadas de podócitos. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

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

Manuseamento

Culture Medium RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density Inocule frascos de cultura celular T75 com 1×10^4 células/cm² (cerca de 60.000 células/ml, 12 ml de meio em um T75) para o processo de proliferação. Mantenha as células a 33 graus Celsius / 5% de CO₂, até que o frasco esteja cerca de 75% confluyente.

Fluid renewal 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células SVI | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

33°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células SVI | 400495

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.