

Celule SVI | 400495

Informații generale

Description Linia celulară SVI a fost clonată din excrescența glomerulilor care au fost izolați de la șoareci transgenici H-2kb-tsA58. Șoarecii poartă o variantă sensibilă la temperatură a antigenului T mare SV40 sub controlul promotorului H-2kb inductibil prin IFN-g. Celulele proliferază la 33 de grade Celsius și se diferențiază la 37 de grade Celsius. În prezent, celulele au fost cultivate cu succes pentru mai mult de 40 de treceri fără a se observa modificări fenotipice. SVI sunt foarte asemănătoare cu E11 în ceea ce privește morfologia și expresia mai multor markeri. De exemplu, podocina și WT1 sunt exprimate într-o măsură mai mică în comparație cu E11. Diferențiere: Începeți procesul de diferențiere prin plasarea flaconului (flacoanelor) neconfluent(e) într-un incubator la 38 de grade Celsius / 5% CO2 timp de minimum 14 zile pentru a finaliza diferențierea. Adăugarea de interferon-gamma (INF-gamma) nu este necesară.

Organism Șoarece

Tissue Rinichi

Caracteristici

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

Age Adult

Gender Nespecificat

Cell type Podocyte

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation SVI (număr de catalog Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Celule SVI | 400495

GMO Status	OMG-S1: Această linie celulară de podocite murine (SVI) conține un transgene SV40 Large T-Antigen activ condiționat ca parte a modelului ImmortoMouse, care susține imortalizarea sensibilă la temperatură. Construcția este prezentă în mod stabil în celulele derivate din podocite. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.
-------------------	---

Date biomoleculare

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

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
---------------------	--

Split ratio	Se recomandă un raport de 1:3 până la 1:5. În condiții de diferențiere, adică prin incubarea culturilor de la stadiul inițial până la confluență la 38 de grade Celsius, proliferarea celulară încetează în primele două săptămâni și se oprește după aproximativ patru săptămâni
--------------------	---

Seeding density	Inoculați flacoanele de cultură celulară T75 cu 1×10^4 celule/cm ² (aproximativ 60.000 celule/ml, 12 ml mediu într-un flacon T75) pentru procesul de proliferare. Mențineți celulele la 33 grade Celsius / 5% CO ₂ , până când flaconul este aproximativ 75% confluent.
------------------------	--

Fluid renewal	de 3 ori pe săptămână
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
----------------------	---

Celule SVI | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

33°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule SVI | 400495

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul STR

Amelogenin: x,x