

SVI-celler | 400495

Allmän information

Description SVI-cellinjen har klonats från utväxten av glomeruli som isolerats från H-2kb-tsA58 transgena möss. Mössen bär på en temperaturkänslig variant av SV40 large T-antigenet under kontroll av den IFN-g-inducerbara H-2kb-promotorn. Cellerna prolifererar vid 33 grader Celsius och differentieras vid 37 grader Celsius. För närvarande har cellerna odlats framgångsrikt i mer än 40 passager utan att fenotypiska förändringar har noterats. SVI är mycket lika E11 när det gäller morfologi och uttryck av flera markörer. Exempelvis uttrycks podocin och WT1 i mindre utsträckning jämfört med E11. Differentiering: Starta differentieringsprocessen genom att placera de icke-flytande kolvarna i en inkubator vid 38 grader Celsius / 5% CO₂ i minst 14 dagar för att slutföra differentieringen. Tillsats av interferon-gamma (INF-gamma) är inte nödvändig.

Organism Mus

Tissue Njurar

Egenskaper

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

Age Vuxen

Gender Ospecificerad

Cell type Podocyt

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

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: Denna murina podocytcellinje (SVI) innehåller en villkorligt aktiv SV40 Large T-Antigen-transgen som en del av ImmortoMouse-modellen, vilket stöder temperaturkänslig immortalisering. Konstruktionen är stabilt närvarande i podocytderiverade celler. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.
-------------------	---

Biomolekylära data

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

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
---------------------	---

Split ratio	Ett förhållande på 1:3 till 1:5 rekommenderas Under differentieringsförhållanden, dvs inkubation av icke till konfluenta kulturer vid 38 grader Celsius, upphör cellproliferationen inom de första två veckorna och upphör efter cirka fyra veckor
--------------------	--

Seeding density	Inokulera T75-celldodlingsflaskor med 1×10^4 celler/cm ² (cirka 60 000 celler/ml, 12 ml medium i en T75) för proliferation. Håll cellerna vid 33 grader Celsius/5 % CO ₂ tills flaskan är cirka 75 % konfluent.
------------------------	--

Fluid renewal	3 gånger per vecka
----------------------	--------------------

Freeze medium	Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.
----------------------	--

SVI-celler | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

SVI-celler | 400495

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x,x