

Bunky SVI | 400495**Všeobecné informácie**

Description Bunková línia SVI bola klonovaná z výrastkov glomerulov, ktoré boli izolované z transgénnych myší H-2kb-tsA58. Tieto myši nesú teplotne citlivý variant veľkého T antigénu SV40 pod kontrolou promotora H-2kb indukovaného IFN-g. Bunky sa množia pri teplote 33 stupňov Celzia a diferencujú sa pri teplote 37 stupňov Celzia. V súčasnosti sa bunky úspešne kultivujú viac ako 40 pasáží bez toho, aby sa zaznamenali fenotypové zmeny. SVI sú veľmi podobné E11 z hľadiska morfológie a expresie niekoľkých markerov. Napríklad podocín a WT1 sú v porovnaní s E11 exprimované v menšej miere. Diferenciácia: Proces diferenciácie začnite umiestnením nekonfluentnej banky (baniek) do inkubátora pri teplote 38 stupňov Celzia / 5 % CO2 na minimálne 14 dní na dokončenie diferenciácie. Pridanie interferónu-gamma (INF-gamma) nie je potrebné.

Organism Myš

Tissue Obličky

Charakteristika

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

Age Dospelí

Gender Nešpecifikované

Cell type Podocyty

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation SVI (katalógové číslo Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

GMO Status GMO-S1: Táto línia myších podocytov (SVI) obsahuje podmiennečne aktívny transgén SV40 Large T-Antigen ako súčasť modelu ImmortoMouse, ktorý podporuje teplotne citlivú imortalizáciu. Konštrukt je stabilne prítomný v bunkách odvodených od podocytov. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Bunky SVI | 400495**Biomolekulárne údaje**

Protein expression WT1, Lmx1b, nefrín, NEPH1, FAT, P-kadherín, CD2AP, ZO-1, podokalyxín, podoplanín, synpo, podocín, TRPC6 a GAPDH.

Spracovanie

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density Na účely proliferácie naočkujte kultivačné fľaše T75 s 1×10^4 bunkami/cm² (približne 60 000 buniek/ml, 12 ml média v jednej fľaši T75). Udržujte bunky pri teplote 33 °C / 5 % CO₂, kým fľaša nedosiahne približne 75 % konfluencie.

Fluid renewal 3-krát týždenne

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky SVI | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky SVI | 400495

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.