

Celice SVI | 400495

Splošne informacije

Description Celična linija SVI je bila klonirana iz izrastka glomerulov, ki so bili izolirani iz transgenih miši H-2kb-tsA58. Te miši nosijo temperaturno občutljivo različico velikega T antigena SV40 pod nadzorom promotorja H-2kb, ki ga inducira IFN-g. Celice se razmnožujejo pri 33 stopinjah Celzija in diferencirajo pri 37 stopinjah Celzija. Trenutno so celice uspešno gojili več kot 40 pasaž, ne da bi opazili fenotipske spremembe. SVI so po morfologiji in izražanju več označevalcev zelo podobne celicam E11. Na primer, podocin in WT1 sta izražena v manjši meri kot pri E11. Diferenciacija: Diferenciacijo začnite tako, da nekonfluentne erlenmajerice postavite v inkubator pri 38 stopinjah Celzija / 5 % CO₂ za najmanj 14 dni, da se diferenciacija zaključi. Dodajanje interferona gama (INF-gama) ni potrebno.

Organism Miška

Tissue Ledvice

Značilnosti

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

Age Odrasli

Gender Neopredeljeno

Cell type Podociti

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation SVI (katalogska številka Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

GMO Status GMO-S1: Ta linija celic podocitov miši (SVI) vsebuje pogojno aktiven transgen SV40 Large T-Antigen kot del modela ImmortoMouse, ki podpira temperaturno občutljivo imortalizacijo. Konstrukt je stabilno prisoten v celicah, pridobljenih iz podocitov. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Celice SVI | 400495

Biomolekularni podatki

Protein expression WT1, Lmx1b, nefrin, NEPH1, FAT, P-kaderin, CD2AP, ZO-1, podokaliksin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 in GAPDH.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density Za proces proliferacije inokulirajte kolbe za celično kulturo T75 z 1×10^4 celicami/cm² (približno 60.000 celic/ml, 12 ml gojišča v eni kolbi T75). Celice hranite pri temperaturi 33 °C / 5 % CO₂, dokler kolba ni približno 75 % konfluentna.

Fluid renewal 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice SVI | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice SVI | 400495

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.