

SVI Hücreleri | 400495

Genel bilgi

Description SVI hücre hattı, H-2kb-tsA58 transgenik farelerden izole edilen glomerüllerin büyümesinden klonlanmıştır. Bu fareler, IFN-g ile indüklenebilir H-2kb promotörünün kontrolü altında SV40 büyük T antijeninin sıcaklığa duyarlı bir varyantını taşımaktadır. Hücreler 33 santigrat derecede çoğalmakta ve 37 santigrat derecede farklılaşmaktadır. Şu anda, hücreler fenotipik değişiklikler görülmeden 40'tan fazla pasaj boyunca başarıyla kültürlenmiştir. SVI, morfoloji ve çeşitli belirteçlerin ifadesi açısından E11'e çok benzemektedir. Örneğin, podocin ve WT1 E11'e kıyasla daha az oranda ifade edilmektedir. Farklılaşma: Farklılaşmayı tamamlamak için akıcı olmayan şişeleri en az 14 gün boyunca 38 santigrat derece / %5 CO2'de bir inkübatöre yerleştirerek farklılaşma sürecini başlatın. İnterferon-gama (INF-gama) ilavesi gerekli değildir.

Organism Fare

Tissue Böbrek

Özellikler

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

Age Yetişkin

Gender Belirtilmemiş

Cell type Podosit

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation SVI (Cytion katalog numarası 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

GMO Status GMO-S1: Bu murin podosit hücre hattı (SVI), ImmortoMouse modelinin bir parçası olarak sıcaklığa duyarlı immortalizasyonu destekleyen koşullu olarak aktif bir SV40 Large T-Antigen transgeni içerir. Bu yapı podosit türevi hücrelerde stabil olarak bulunur. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

SVI Hücreleri | 400495

Biyomoleküler Veriler

Protein expression

WT1, Lmx1b, nephrin, NEPH1, FAT, P-cadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 ve GAPDH.

Elleçleme

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)

Supplements

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density

Çoğaltma işlemi için T75 hücre kültürü şişelerine 1×10^4 hücre/cm² (yaklaşık 60.000 hücre/ml, bir T75'te 12 ml ortam) ekleyin. Şişe yaklaşık %75 dolana kadar hücreleri 33 derece Celsius / %5 CO₂ 'de tutun.

Fluid renewal

haftada 3 kez

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

SVI Hücreleri | 400495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

33°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

SVI Hücreleri | 400495

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.