

SVI Cells | 400495

Загальна інформація

Description Клітинну лінію SVI було клоновано з відростків клубочків, виділених з трансгенних мишей H-2kb-tsA58. Миші несуть термочутливий варіант великого T-антигену SV40 під контролем ІФН-g-індукованого промотора H-2kb. Клітини проліферують при 33 градусах Цельсія, а диференціюються при 37 градусах Цельсія. На даний час клітини успішно культивуються вже більше 40 пасажів без будь-яких фенотипових змін. SVI дуже схожі на E11 з точки зору морфології та експресії декількох маркерів. Наприклад, подоцити і WT1 експресуються меншою мірою порівняно з E11. Диференціація: Почніть процес диференціації, помістивши неконфлюентні колби в інкубатор при 38 градусах Цельсія / 5% CO2 мінімум на 14 днів для завершення диференціації. Додавання інтерферону-гамма (INF-гамма) не є необхідним.

Organism Миша

Tissue Нирка

Характеристики

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

Age Дорослий

Gender Не визначено

Cell type Подоцит

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation SVI (номер за каталогом Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

GMO Status ГМО-S1: Ця лінія клітин подоцитів миші (SVI) містить умовно активний трансген SV40 великого T-антигену як частина моделі ImmortoMouse, що підтримує термочутливу іморталізацію. Конструкція стабільно присутня в клітинах, отриманих з подоцитів. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

SVI Cells | 400495

Біомолекулярні дані

Protein expression WT1, Lmx1b, нефрін, NEPH1, FAT, P-кадгерин, CD2AP, ZO-1, подокаліксин, подопланін, супро, подоцин, TRPC6 і GAPDH.

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хг протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Split ratio Рекомендується співвідношення 1:3–1:5. У умовах диференціації, тобто при інкубації неконфлюентних культур при температурі 38 °С, проліферація клітин припиняється протягом перших двох тижнів і повністю зупиняється приблизно через чотири тижні

Seeding density Для процесу проліферації засейте колби для культивування клітин T75 1x 10⁴ клітинами/см² (приблизно 60 000 клітин/мл, 12 мл середовища в одній колбі T75). Зберігайте клітини при температурі 33 °С / 5 % CO₂, доки колба не буде заповнена приблизно на 75 %.

Fluid renewal 3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

SVI Cells | 400495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

33°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

SVI Cells | 400495

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Профіль STR

Amelogenin: x,x