

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 Т-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 Т-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.

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 °C / 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 криовіал 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, зануривши 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 криовіал 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

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.