

Cellules SVI | 400495

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire SVI a été clonée à partir de la prolifération de glomérules isolés chez des souris transgéniques H-2kb-tsA58. Ces souris sont porteuses d'une variante thermosensible de l'antigène T majeur du SV40, sous le contrôle du promoteur H-2kb inducible par l'IFN- γ . Les cellules prolifèrent à 33 degrés Celsius et se différencient à 37 degrés Celsius. À l'heure actuelle, ces cellules ont été cultivées avec succès pendant plus de 40 passages sans qu'aucun changement phénotypique n'ait été observé. Les cellules SVI sont très similaires aux cellules E11 en termes de morphologie et d'expression de plusieurs marqueurs. Par exemple, la podocine et le WT1 sont exprimés dans une moindre mesure par rapport aux cellules E11. Différenciation : amorcez le processus de différenciation en plaçant le ou les flacons non confluents dans un incubateur à 38 degrés Celsius / 5 % de CO ₂ pendant au moins 14 jours pour mener à bien la différenciation. L'ajout d'interféron gamma (INF-gamma) n'est pas nécessaire.
--------------------	--

Organism	Souris
-----------------	--------

Tissue	Rein
---------------	------

Caractéristiques

Breed/Subspecies	(CBA/Ca $\times$ C57BL/10)Tg(H2KbtsA58) Immort
-------------------------	--

Age	Adulte
------------	--------

Gender	Non précisé
---------------	-------------

Cell type	Podocyte
------------------	----------

Growth properties	Adepte
--------------------------	--------

Données réglementaires

Citation	SVI (numéro de catalogue Cytion 400495)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5943
-----------------------------	-----------

Cellules SVI | 400495

GMO Status

GMO-S1 : Cette lignée cellulaire de podocytes murins (SVI) contient un transgène de l'antigène T de grande taille du SV40 à activation conditionnelle, dans le cadre du modèle ImmortoMouse, permettant une immortalisation thermosensible. La construction est présente de manière stable dans les cellules dérivées de podocytes. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires**Protein expression**

WT1, Lmx1b, néphrine, NEPH1, FAT, P-cadhérine, CD2AP, ZO-1, podocalyxine, podoplanine, synpo, podocine, TRPC6 et GAPDH.

Manipulation**Culture Medium**

RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)

Supplements

Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Seeding density

Inoculer des flacons de culture cellulaire T75 à raison de 1×10^4 cellules/cm² (environ 60 000 cellules/ml, 12 ml de milieu par flacon T75) pour le processus de prolifération. Conserver les cellules à 33 degrés Celsius / 5 % de CO₂, jusqu'à ce que la fiole soit confluite à environ 75 %.

Fluid renewal

3 fois par semaine

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules SVI | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150°C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

33°C , 5 % CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196°C . L'entreposage à -80°C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules SVI | 400495

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.