

Células SVI | 400495

Informações gerais

Description A linhagem celular SVI foi clonada a partir do crescimento de glomérulos isolados de camundongos transgênicos H-2kb-tsA58. Esses camundongos portam uma variante sensível à temperatura do antígeno T grande do SV40, sob o controle do promotor H-2kb induzível por IFN- γ . As células proliferam a 33 graus Celsius e se diferenciam a 37 graus Celsius. Atualmente, as células foram cultivadas com sucesso por mais de 40 passagens, sem que se observassem alterações fenotípicas. As células SVI são muito semelhantes às E11 em termos de morfologia e expressão de vários marcadores. Por exemplo, a podocina e o WT1 são expressos em menor grau em comparação com as células E11. Diferenciação: Inicie o processo de diferenciação colocando o(s) frasco(s) não confluentes em uma incubadora a 38 graus Celsius / 5% de CO₂ por um período mínimo de 14 dias para completar a diferenciação. A adição de interferon-gama (INF-gama) não é necessária.

Organism Mouse

Tissue Rim

Características

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

Age Adulto

Gender Não especificado

Cell type Podócito

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation SVI (número de catálogo da Cytion 400495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5943

Células SVI | 400495**GMO Status**

GMO-S1: Esta linhagem celular de podócitos murinos (SVI) contém um transgene do antígeno T grande do SV40 condicionalmente ativo, como parte do modelo ImmortoMouse, que permite a imortalização sensível à temperatura. A construção está presente de forma estável nas células derivadas de podócitos. Esta classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.

Dados biomoleculares**Protein expression**

WT1, Lmx1b, nefrina, NEPH1, FAT, P-caderina, CD2AP, ZO-1, podocalicina, podoplanina, synpo, podocina, TRPC6 e GAPDH.

Manuseio**Culture Medium**

RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density

Inocule frascos de cultura celular T75 com 1×10^4 células/cm² (cerca de 60.000 células/ml, 12 ml de meio em um frasco T75) para o processo de proliferação. Mantenha as células a 33 graus Celsius / 5% de CO₂, até que o frasco esteja cerca de 75% confluento.

Fluid renewal

3 vezes por semana

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células SVI | 400495

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

33 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células SVI | 400495

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.