

Клетки E11 | 400494

Обща информация

Description

Клетъчната линия E11 е високоспециализирана клетъчна линия от мишки, разработена за напреднали изследвания на функцията на подоцитите и механизмите на бъбречните заболявания. Произведени от гломерулите на трансгенни мишки, създадени да експресират температурно чувствителен вариант на големия Т антиген SV40, клетките E11 работят под регулацията на индуцирания от IFN-g промотор H-2kb. Тази уникална генетична рамка улеснява условната пролиферация на клетките, зависеща от температурата на околната среда, което е в съответствие с контролираната експресия на Т антигена.

Една от отличителните характеристики на клетъчната линия E11 е нейната фенотипна стабилност при продължително пасиране. Поддържайки постоянна експресия и клетъчни характеристики през повече от 40 пасажа, клетките E11 са се доказали като безценни за дългосрочни изследвания без обичайния проблем с фенотипното отклонение, което се наблюдава при много култивирани клетъчни линии. Тази стабилност подобрява използването им в повтарящи се и продължителни биологични експерименти, изискващи постоянно поведение на клетките.

По отношение на протеиновата експресия клетъчната линия E11 показва стабилен профил, който е от съществено значение за специфични за подоцитите изследвания. Клетките постоянно експресират нефрин, съществен компонент от структурата на диафрагмата на процепа в подоцитите, заедно с редица други специфични за подоцитите протеини като подоцин, CD2AP и синаптоподин. Тази всеобхватна експресия на протеини улеснява изучаването на биологията на подоцитите в контролирана *in vitro* среда, която в голяма степен симулира условията *in vivo*. Способността на клетките E11 да образуват обширни клетъчни контакти допълнително подчертава тяхната пригодност за моделиране на функционалността на бъбречната филтрационна бариера.

Organism Мишка

Tissue Бъбреци

Характеристики

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

Age Възрастни

Gender Неуточнено

Cell type Подоцити

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки E11 | 400494

Citation	E11 (каталожен номер на Cytion 400494)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5737
GMO Status	GMO-S1: Тази линия на миши подоцити Immorto съдържа чувствителна към температурата конструкция на SV40 Т-антиген, която позволява условно обезсмъртяване. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	WT1, Lmx1b, нефрин, NEPH1, FAT, Р-кадерин, CD2AP, ZO-1, подокаликсин, подоплаин, синпо, подоцин, TRPC6 и GAPDH.
---------------------------	---

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	Инокулирайте колби с клетъчна култура T75 с 1×10^4 клетки/cm ² за процеса на пролиферация. Поддържайте клетките при 33 градуса Целзий / 5% CO ₂ , докато колбата стане около 75% конфлуентна.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки E11 | 400494

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки E11 | 400494

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.