

E11-celler | 400494**Generel information****Description**

E11-cellelinjen er en højt specialiseret murin cellelinje, der er udviklet til avancerede undersøgelser af podocytfunktion og nyresygdomsmekanismer. E11-cellerne stammer fra glomeruli fra transgene mus, der er konstrueret til at udtrykke en temperaturfølsom variant af SV40 large T-antigenet, og de fungerer under regulering af den IFN-g-inducerbare H-2kb-promotor. Denne unikke genetiske ramme muliggør en betinget spredning af cellerne, som er afhængig af omgivelsernes temperatur, hvilket stemmer overens med det kontrollerede udtryk af T-antigenet.

Et af de særlige kendetegn ved E11-cellelinjen er dens fænotypiske stabilitet på tværs af omfattende passage. E11-cellerne opretholder et ensartet udtryk og cellulære egenskaber gennem mere end 40 passager og har vist sig at være uvurderlige til langtidsstudier uden det almindelige problem med fænotypisk drift, der ses i mange dyrkede cellelinjer. Denne stabilitet forbedrer deres anvendelse i gentagne og udvidede biologiske eksperimenter, der kræver ensartet celleadfærd.

Med hensyn til proteinudtryk udviser E11-cellelinjen en robust profil, der er afgørende for podocytspecifikke undersøgelser. Cellerne udtrykker konsekvent nephrin, en væsentlig komponent i podocyternes spaltestruktur, sammen med en række andre podocytspecifikke proteiner som podocin, CD2AP og synaptopodin. Dette omfattende proteinudtryk gør det muligt at studere podocytbologi i et kontrolleret in vitro-miljø, der nøje simulerer in vivo-forhold. E11-cellernes evne til at danne omfattende celle-celle-kontakter understreger yderligere deres egnethed til modellering af nyrernes filtreringsbarrierefunktioner.

Organism Mus**Tissue** Nyre**Karakteristika****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Voksen**Gender** Uspecificeret**Cell type** Podocyt**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** E11 (Cytion katalognummer 400494)

E11-celler | 400494**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5737**GMO Status** GMO-S1: Denne Immorto Mouse-podocytlinje indeholder en temperaturfølsom SV40 T-antigenkonstruktion, der muliggør betinget udødeliggørelse. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** WT1, Lmx1b, nephrin, NEPH1, FAT, P-cadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 og GAPDH.**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** Inokulér T75-cellekulturflasker med 1×10^4 celler/cm² til proliferationsprocessen. Opbevar cellerne ved 33 grader Celsius / 5 % CO₂, indtil flasken er ca. 75 % konfluent.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

E11-celler | 400494**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

33 °C, 5 % CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

E11-celler | 400494

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.