

E11 Zellen | 400494

Allgemeine Informationen

Description

Die E11-Zelllinie ist eine hochspezialisierte murine Zelllinie, die für fortgeschrittene Studien der Podozytenfunktion und der Mechanismen von Nierenerkrankungen entwickelt wurde. Die E11-Zellen wurden aus den Glomeruli transgener Mäuse gewonnen, die eine temperaturempfindliche Variante des SV40 large T-Antigens exprimieren, und werden durch den IFN-g-induzierbaren H-2kb-Promotor gesteuert. Dieser einzigartige genetische Rahmen erleichtert die bedingte Vermehrung der Zellen in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur, was mit der kontrollierten Expression des T-Antigens übereinstimmt.

Eines der charakteristischen Merkmale der E11-Zelllinie ist ihre phänotypische Stabilität bei umfangreicher Passagierung. Die E11-Zellen behalten über mehr als 40 Passagen hinweg eine konsistente Expression und zelluläre Eigenschaften bei und haben sich als unschätzbar wertvoll für Langzeitstudien erwiesen, ohne dass das bei vielen kultivierten Zelllinien auftretende Problem der phänotypischen Drift auftritt. Diese Stabilität begünstigt ihre Verwendung in wiederholten und ausgedehnten biologischen Experimenten, die ein konsistentes Zellverhalten erfordern.

Was die Proteinexpression betrifft, so weist die E11-Zelllinie ein robustes Profil auf, das für podozytenspezifische Studien unerlässlich ist. Die Zellen exprimieren durchgängig Nephtrin, eine wesentliche Komponente der Schlitzdiaphragma-Struktur in Podozyten, neben einer Vielzahl anderer podozytenspezifischer Proteine wie Podocin, CD2AP und Synaptopodin. Diese umfassende Proteinexpression erleichtert die Untersuchung der Podozytenbiologie in einer kontrollierten In-vitro-Umgebung, die den Bedingungen in vivo sehr ähnlich ist. Die Fähigkeit der E11-Zellen, ausgedehnte Zell-Zell-Kontakte zu bilden, unterstreicht zudem ihre Eignung für die Modellierung der Nierenfiltrationsbarrierefunktionen.

Organism Maus

Tissue Niere

Merkmale

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

Age Erwachsener

Gender Nicht spezifiziert

Cell type Podozyten

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

E11 Zellen | 400494

Citation	E11 (Cytion Katalognummer 400494)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5737
GMO Status	GMO-S1: Diese Immorto-Maus-Podozytenlinie enthält ein temperatursensitives SV40-T-Antigenkonstrukt, das eine konditionale Immortalisierung ermöglicht. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Protein expression	WT1, Lmx1b, Nephrin, NEPH1, FAT, P-Cadherin, CD2AP, ZO-1, Podocalyxin, Podoplanin, Synpo, Podocin, TRPC6 und GAPDH.
---------------------------	---

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Ein Verhältnis von 1:3 oder 1:5 (bei 33 Grad Celsius) wird empfohlen. Unter Differenzierungsbedingungen, d. h. Bebrütung von nicht-konfluenten Kulturen bei 38 Grad Celsius, hört die Zellvermehrung innerhalb der ersten zwei Wochen auf und kommt nach etwa vier Wochen zum Stillstand
Seeding density	Impfen Sie T75-Zellkulturflaschen mit 1×10^4 Zellen/cm ² für den Proliferationsprozess. Halten Sie die Zellen bei 33 Grad Celsius / 5 % CO ₂ , bis die Flasche zu etwa 75 % konfluent ist.
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche

E11 Zellen | 400494

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

33°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

E11 Zellen | 400494

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.