

## Κύτταρα E11 | 400494

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά E11 είναι μια εξαιρετικά εξειδικευμένη κυτταρική σειρά ποντικού που αναπτύχθηκε για προηγμένες μελέτες της λειτουργίας των ποδοκυττάρων και των μηχανισμών νεφρικών παθήσεων. Τα κύτταρα E11 προέρχονται από τα σπειράματα διαγονιδιακών ποντικών που έχουν τροποποιηθεί ώστε να εκφράζουν μια ευαίσθητη στη θερμοκρασία παραλλαγή του μεγάλου αντιγόνου T SV40 και λειτουργούν υπό τη ρύθμιση του επαγώγιμου από την IFN-g υποκινητή H-2kb. Αυτό το μοναδικό γενετικό πλαίσιο διευκολύνει τον υπό όρους πολλαπλασιασμό των κυττάρων, ο οποίος εξαρτάται από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος και ευθυγραμμίζεται με την ελεγχόμενη έκφραση του αντιγόνου T.

Ένα από τα διακριτικά χαρακτηριστικά της κυτταρικής σειράς E11 είναι η φαινοτυπική της σταθερότητα σε εκτεταμένη παθητικοποίηση. Διατηρώντας συνεπή έκφραση και κυτταρικά χαρακτηριστικά σε περισσότερες από 40 διελεύσεις, τα κύτταρα E11 έχουν αποδειχθεί ανεκτίμητα για μακροχρόνιες μελέτες χωρίς το σύνθετο πρόβλημα της φαινοτυπικής μετατόπισης που παρατηρείται σε πολλές καλλιεργούμενες κυτταρικές σειρές. Αυτή η σταθερότητα ενισχύει τη χρήση τους σε επαναλαμβανόμενα και εκτεταμένα βιολογικά πειράματα που απαιτούν συνεπή συμπεριφορά των κυττάρων.

Όσον αφορά την έκφραση πρωτεϊνών, η κυτταρική σειρά E11 παρουσιάζει ένα ισχυρό προφίλ που είναι απαραίτητο για μελέτες που αφορούν ειδικά τα ποδοκύτταρα. Τα κύτταρα εκφράζουν σταθερά τη νεφρίνη, ένα βασικό συστατικό της δομής του σχισμοειδούς διαφράγματος στα ποδοκύτταρα, μαζί με μια ποικιλία άλλων ειδικών για τα ποδοκύτταρα πρωτεϊνών, όπως η ποδοκίνη, το CD2AP και η συναπτοποδίνη. Αυτή η ολοκληρωμένη έκφραση πρωτεϊνών διευκολύνει τη μελέτη της βιολογίας των ποδοκυττάρων σε ένα ελεγχόμενο *in vitro* περιβάλλον, που προσομοιάζει στενά τις *in vivo* συνθήκες. Η ικανότητα των κυττάρων E11 να σχηματίζουν εκτεταμένες επαφές κυττάρου-κυττάρου υπογραμμίζει περαιτέρω την καταλληλότητά τους για τη μοντελοποίηση των λειτουργιών του φραγμού διήθησης των νεφρών.

**Organism** Ποντίκι

**Tissue** Νεφρός

## Χαρακτηριστικά

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

**Age** Ενηλίκων

**Gender** Απροσδιόριστο

**Cell type** Ποδοκύτταρα

**Growth properties** Προσκολλημένο

## Ρυθμιστικά δεδομένα

**Κύτταρα E11 | 400494**

<b>Citation</b>	E11 (αριθμός καταλόγου Cytion 400494)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5737
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Αυτή η γραμμή ποδοκυττάρων Immorto Mouse περιέχει μια ευαίσθητη στη θερμοκρασία κατασκευή SV40 T-αντιγόνου που επιτρέπει την υπό όρους αθανασία. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

**Βιομοριακά δεδομένα**

<b>Protein expression</b>	WT1, Lmx1b, νεφρίνη, NEPH1, FAT, P-cadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 και GAPDH.
---------------------------	---

**Χειρισμός**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
<b>Seeding density</b>	Εμβολιάστε φιάλες καλλιέργειας κυττάρων T75 με $1 \times 10^4$ κύτταρα/cm <sup>2</sup> για τη διαδικασία πολλαπλασιασμού. Διατηρήστε τα κύτταρα σε θερμοκρασία 33 βαθμών Κελσίου / 5% CO <sub>2</sub> , έως ότου η φιάλη είναι περίπου 75% συμπυκνωμένη.
<b>Fluid renewal</b>	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

**Κύτταρα E11 | 400494****Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**

$33^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

## Κύτταρα E11 | 400494

### Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.