

**E11 rakud | 400494****Üldine teave****Description**

E11 rakuliin on kõrgelt spetsialiseerunud hiirte rakuliin, mis on välja töötatud podotsüütide funktsiooni ja neeruhaiguste mehhanismide täiustatud uuringuteks. E11 rakud on saadud transgeensete hiirte glomerulidest, mis on konstrueeritud ekspresseerima SV40 suure T antigeeni temperatuuritundlikku varianti, ja nad töötavad IFN-g-indutseeritava H-2kb promootori reguleerimisel. See ainulaadne geneetiline raamistik hõlbustab rakkude tingimuslikku proliferatsiooni, mis sõltub keskkonna temperatuurist, mis on kooskõlas T-antigeeni kontrollitud ekspressiooniga.

Üks E11 rakuliini iseloomulikke omadusi on selle fenotüüpne stabiilsus ulatusliku passagerimise ajal. E11 rakud säilitavad järjepideva ekspressiooni ja rakkude omadusi rohkem kui 40 passage'i kaudu, mistõttu on nad osutunud hindamatuks pikaajaliste uuringute jaoks ilma fenotüüpide triivimise probleemita, mida on täheldatud paljude kultiveeritud rakuliinide puhul. Selline stabiilsus parandab nende kasutamist korduvates ja pikaajalistes bioloogilistes katsetes, mis nõuavad rakkude järjepidevat käitumist.

E11 rakuliinil on valkude ekspressiooni osas tugev profiil, mis on podotsüütide-spetsiifiliste uuringute jaoks hädavajalik. Need rakud ekspresseerivad järjekindlalt nefriini, mis on podotsüütide lõhede diafragmastruktuuri oluline komponent, koos mitmete teiste podotsüütidele omaste valkude, nagu podotsiin, CD2AP ja sünaptopodiin, kõrval. Selline ulatuslik valkude ekspressioon hõlbustab podotsüütide bioloogia uurimist kontrollitud in vitro keskkonnas, mis simuleerib lähedalt in vivo tingimusi. E11 rakkude võime moodustada ulatuslikke raku-rakukontakte rõhutab veelgi nende sobivust neerufiltratsiooni barjääri funktsioonide modelleerimiseks.

**Organism** Hiir**Tissue** Neerud**Omadused****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Täiskasvanud**Gender** Täpsustamata**Cell type** Podotsüüdid**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** E11 (Cytioni katalooginumber 400494)

## E11 rakud | 400494

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5737**GMO Status** GMO-S1: See Immorto hiire podotsüütide liin sisaldab temperatuuritundlikku SV40 T-antigeeni konstruktsiooni, mis võimaldab tingimuslikku immortaliseerimist. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** WT1, Lmx1b, nefriin, NEPH1, FAT, P-kadheriin, CD2AP, ZO-1, podokalüksin, podoplaniin, sünpo, podokiin, TRPC6 ja GAPDH.**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** Inokuleerige T75 rakukultuuri kolvid  $1 \times 10^4$  rakuga/cm<sup>2</sup> proliferaatsiooni protsessi jaoks. Hoidke rakke 33 °C juures / 5% CO<sub>2</sub>, kuni kolv on umbes 75% konfluentne.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüoäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## E11 rakud | 400494

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**E11 rakud | 400494**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.