

## E11 Sejtek | 400494

## Általános információk

## Description

Az E11 sejtvonal egy magasan specializált egérsajtvonal, amelyet a podociták működésének és a vesebetegségek mechanizmusainak fejlett vizsgálatára fejlesztettek ki. Az E11 sejtek az SV40 nagy T antigén hőmérséklet-érzékeny változatának kifejezésére módosított transzgenikus egerek glomerulusaiból származnak, és az IFN-g-indukálható H-2kb promóter szabályozása alatt működnek. Ez az egyedi genetikai keret megkönnyíti a sejtek feltételes, a környezeti hőmérséklettől függő proliferációját, ami összhangban van a T antigén szabályozott expressziójával.

Az E11 sejtvonal egyik megkülönböztető jellemzője a fenotípusos stabilitás a kiterjedt passzázok során. Az E11 sejtek több mint 40 passzáson keresztül megőrzik az expresszió és a sejtjellemzők konzisztens voltát, így felbecsülhetetlen értékűnek bizonyultak a hosszú távú vizsgálatokhoz, anélkül, hogy a fenotípusos drift sok tenyésztett sejtvonalnál gyakori probléma lenne. Ez a stabilitás fokozza a sejtek felhasználását az ismétlődő és hosszán tartó biológiai kísérletekben, amelyek következetes sejtmagatartást igényelnek.

A fehérjeexpresszió tekintetében az E11 sejtvonal olyan robusztus profilt mutat, amely a podocita-specifikus vizsgálatokhoz elengedhetetlen. A sejtek következetesen expresszálják a nephrint, a podociták réses membránszerkezetének alapvető összetevőjét, számos más podocita-specifikus fehérje, például a podocin, a CD2AP és a synaptopodin mellett. Ez az átfogó fehérjeexpresszió megkönnyíti a podociták biológiájának tanulmányozását ellenőrzött in vitro környezetben, amely szorosan szimulálja az in vivo körülményeket. Az E11 sejtek azon képessége, hogy kiterjedt sejt-sejt kapcsolatokat tudnak kialakítani, tovább hangsúlyozza alkalmasságukat a vese szűrési gát funkcióinak modellezésére.

**Organism** Egér

**Tissue** Vese

## Jellemzők

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

**Age** Felnőtt

**Gender** Meghatározatlan

**Cell type** Podocita

**Growth properties** Adherent

## Szabályozási adatok

**Citation** E11 (Cytion katalógusszám: 400494)

## E11 Sejtek | 400494

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5737**GMO Status** GMO-S1: Ez az Immorto egér podocita vonal egy hőmérséklet-érzékeny SV40 T-antigén konstrukciót tartalmaz, amely lehetővé teszi a feltételes immortalizációt. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Protein expression** WT1, Lmx1b, nefrin, NEPH1, FAT, P-kadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 és GAPDH.**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** A proliferációs folyamat érdekében  $1 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> sűrűséggel oltjuk be a T75 sejt kultúra-lombikokat. A sejteket 33 °C-on és 5% CO<sub>2</sub>-koncentráció mellett tartjuk, amíg a lombik körülbelül 75%-os konfluenciát nem ér el.**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvastás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

## E11 Sejtek | 400494

### Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

### Incubation Atmosphere

$33\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

### Flask Coating

Nincs

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## E11 Sejtek | 400494

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.