

Sel E11 | 400494

Informasi umum

Description

Lini sel E11 adalah lini sel murin yang sangat terspesialisasi yang dikembangkan untuk penelitian lanjutan dalam fungsi podosit dan mekanisme penyakit ginjal. Berasal dari glomerulus tikus transgenik yang direkayasa untuk mengekspresikan varian antigen T besar SV40 yang peka terhadap suhu, sel E11 beroperasi di bawah regulasi promotor H-2kb yang dapat diinduksi oleh IFN- γ . Kerangka kerja genetik yang unik ini memfasilitasi proliferasi bersyarat sel, tergantung pada suhu lingkungan, yang selaras dengan ekspresi antigen T yang terkendali.

Salah satu ciri khas dari garis sel E11 adalah stabilitas fenotipiknya di seluruh lintasan yang luas. Mempertahankan ekspresi yang konsisten dan karakteristik seluler melalui lebih dari 40 lintasan, sel E11 telah terbukti sangat berharga untuk studi jangka panjang tanpa masalah umum pergeseran fenotipik yang terlihat pada banyak garis sel yang dikultur. Stabilitas ini meningkatkan penggunaannya dalam eksperimen biologis yang berulang dan diperpanjang yang membutuhkan perilaku sel yang konsisten.

Dalam hal ekspresi protein, garis sel E11 menunjukkan profil yang kuat yang sangat penting untuk studi spesifik podosit. Sel-sel tersebut secara konsisten mengekspresikan nephrin, komponen penting dari struktur diafragma celah pada podosit, di samping berbagai protein spesifik podosit lainnya seperti podocin, CD2AP, dan synaptopodin. Ekspresi protein yang komprehensif ini memfasilitasi studi biologi podosit dalam lingkungan in vitro yang terkendali, yang secara dekat mensimulasikan kondisi in vivo. Kemampuan sel E11 untuk membentuk kontak sel-sel yang luas semakin menggarisbawahi kesesuaiannya untuk memodelkan fungsi penghalang filtrasi ginjal.

Organism Mouse**Tissue** Ginjal

Karakteristik

Breed/Subspecies (CBA/Ca x C57BL/10) Tg (H2KbtsA58)**Age** Dewasa**Gender** Tidak ditentukan**Cell type** Podocyte**Growth properties** Patuh

Data Peraturan

Citation E11 (Nomor katalog Cytion 400494)

Sel E11 | 400494

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5737
GMO Status	GMO-S1: Lini podosit Immorto Mouse ini mengandung konstruk antigen T-antigen SV40 yang peka terhadap suhu sehingga memungkinkan pengawetan bersyarat. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Protein expression	WT1, Lmx1b, nephrin, NEPH1, FAT, P-cadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6, dan GAPDH.
---------------------------	--

Penanganan

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Nomor artikel Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.
---------------------	---

Seeding density	Inokulasikan flask kultur sel T75 dengan 1×10^4 sel/cm ² untuk proses proliferasi. Jaga sel pada suhu 33 derajat Celsius / 5% CO ₂ , hingga flask mencapai kepadatan sekitar 75%.
------------------------	--

Fluid renewal	2 hingga 3 kali per minggu
----------------------	----------------------------

Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.
----------------------	---

Sel E11 | 400494

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation
Atmosphere**

33°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

**Freezing
Procedure**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Shipping
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel E11 | 400494

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.