

E11 ląstelės | 400494**Bendra informacija****Description**

E11 ląstelių linija - tai labai specializuota pelių ląstelių linija, sukurta pažangiems podocitų funkcijos ir inkstų ligų mechanizmų tyrimams. E11 ląstelės, gautos iš transgeninių pelių glomerulų, sukurtų taip, kad ekspresuotų temperatūrai jautrų SV40 didžiojo T antigeno variantą, veikia reguliuojamos IFN-g indukuojamo H-2kb promotoriaus. Ši unikali genetinė sistema palengvina sąlyginę ląstelių proliferaciją, priklausančią nuo aplinkos temperatūros, kuri atitinka kontroliuojamą T antigeno raišką.

Vienas iš išskirtinių E11 ląstelių linijos bruožų yra jos fenotipinis stabilumas po ilgo perėjimo. E11 ląstelės, išlaikydamos pastovią raišką ir ląstelių savybes daugiau nei 40 kartų, pasirodė esančios neįkainojamos ilgalaikiams tyrimams, nesukeliantis fenotipinio nuokrypio, kuris būdingas daugeliui kultivuojamų ląstelių linijų. Šis stabilumas padeda jas naudoti pakartotiniuose ir ilgalaikiuose biologiniuose eksperimentuose, kuriems reikia nuoseklaus ląstelių elgesio.

Baltymų raiškos požiūriu E11 ląstelių linija pasižymi tvirtu profiliu, kuris yra būtinas podocitų specifiniams tyrimams. Ląstelės nuolat ekspresuoja nefriną - esminį podocitų plyšinės diafragmos struktūros komponentą, taip pat įvairius kitus podocitams būdingus baltymus, tokius kaip podocinas, CD2AP ir sinaptopodinas. Ši išsami baltymų raiška palengvina podocitų biologijos tyrimus kontroliuojamoje in vitro aplinkoje, tiksliai imituojančioje in vivo sąlygas. E11 ląstelių gebėjimas sudaryti plačius ląstelių kontaktus dar labiau pabrėžia jų tinkamumą inkstų filtravimo barjero funkcijoms modeliuoti.

Organism Pelė**Tissue** Inkstai**Charakteristikos****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Suaugusiųjų**Gender** Nenustatyta**Cell type** Podocitai**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** E11 (Cytion katalogo numeris 400494)**Biosafety level** 1

E11 ląstelės | 400494

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5737**GMO Status** GMO-S1: Šioje "Immorto Mouse" podocitų linijoje yra temperatūrai jautri SV40 T-antigeno konstrukcija, leidžianti sąlyginį imortalizavimą. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression WT1, Lmx1b, nefrinas, NEPH1, FAT, P-kadherinas, CD2AP, ZO-1, podokaliksinas, podoplaninas, sinpo, podocinas, TRPC6 ir GAPDH.

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** Inokuliuokite T75 ląstelių kultūros kolbas 1×10^4 ląstelėmis/cm² proliferacijos procesui. Laikykite ląsteles 33 laipsnių Celsijaus temperatūroje / 5 % CO₂, kol kolba bus užpildyta apie 75 %.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

E11 ląstelės | 400494

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

33°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

E11 ląstelės | 400494

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.