

E11 Šūnas | 400494

Vispārīga informācija

Description

E11 šūnu līnija ir ļoti specializēta peļu šūnu līnija, kas izstrādāta podocītu funkcijas un nieru slimību mehānismu progresīviem pētījumiem. E11 šūnas, kas iegūtas no transgēno peļu glomeruliem, kuras ir izveidotas, lai ekspresētu SV40 lielā T antigēna temperatūras jutīgu variantu, darbojas ar IFN- γ inducējama H-2kb promotora regulāciju. Šī unikālā ģenētiskā struktūra veicina šūnu nosacītu proliferāciju atkarībā no vides temperatūras, kas atbilst T antigēna kontrolētai ekspresijai.

Viena no E11 šūnu līnijas atšķirīgajām iezīmēm ir tās fenotipiskā stabilitāte plašas pasāžas laikā. Saglabājot nemainīgu ekspresiju un šūnu īpašības vairāk nekā 40 pasāžu laikā, E11 šūnas ir izrādījušās nenovērtējamas ilgtermiņa pētījumos bez fenotipa novirzes, kas raksturīga daudzām kultivētām šūnu līnijām. Šī stabilitāte uzlabo to izmantošanu atkārtotos un ilgstošos bioloģiskos eksperimentos, kuros nepieciešama konsekventa šūnu uzvedība.

Olbaltumvielu ekspresijas ziņā E11 šūnu līnija uzrāda stabilu profilu, kas ir būtisks podocītu specifiskiem pētījumiem. Šūnas konsekventi ekspresē nefrīnu, kas ir būtiska podocītu diafragmas struktūras sastāvdaļa, kā arī dažādus citus podocītiem specifiskus proteīnus, piemēram, podocīnu, CD2AP un sinaptopodīnu. Šī visaptverošā proteīnu ekspresija atvieglo podocītu bioloģijas izpēti kontrolētā in vitro vidē, kas precīzi imitē in vivo apstākļus. E11 šūnu spēja veidot plašus šūnu-šūnu kontaktus vēl vairāk uzsver to piemērotību nieru filtrācijas barjeras funkciju modelēšanai.

Organism Pele

Tissue Nieres

Raksturojums

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

Age Pieaugušo

Gender Nav norādīts

Cell type Podocīti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation E11 (Cytion kataloga numurs 400494)

Biosafety level 1

E11 Šūnas | 400494**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5737**GMO Status** GMO-S1: Šī Immorto Mouse podocītu līnija satur temperatūras jutīgu SV40 T-antigēna konstrukciju, kas nodrošina nosacītu imortalizāciju. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Protein expression** WT1, Lmx1b, nefrīns, NEPH1, FAT, P-kadherīns, CD2AP, ZO-1, podokaliksīns, podoplanīns, sinpo, podocīns, TRPC6 un GAPDH.**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** Inokulējiet T75 šūnu kultūras kolbas ar 1×10^4 šūnām/cm² proliferācijas procesam. Uzturiet šūnas 33 °C temperatūrā / 5 % CO₂, līdz kolba ir apmēram 75 % konfluenta.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

E11 Šūnas | 400494

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

33°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

E11 Šūnas | 400494

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.