

Komórki E11 | 400494**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa E11 jest wysoce wyspecjalizowaną myszą linią komórkową opracowaną do zaawansowanych badań nad funkcjonowaniem podocytów i mechanizmami chorób nerek. Pochodzące z kłębuszków transgenicznych myszy zaprojektowanych do ekspresji wrażliwego na temperaturę wariantu antygeny SV40 large T, komórki E11 działają pod kontrolą promotora H-2kb indukowanego IFN-g. Ta unikalna struktura genetyczna ułatwia warunkową proliferację komórek, zależną od temperatury otoczenia, co jest zgodne z kontrolowaną ekspresją antygeny T.

Jedną z wyróżniających cech linii komórkowej E11 jest jej stabilność fenotypowa podczas intensywnego pasażowania. Utrzymując stałą ekspresję i charakterystykę komórkową przez ponad 40 pasażów, komórki E11 okazały się nieocenione w długoterminowych badaniach bez powszechnego problemu dryfu fenotypowego obserwowanego w wielu hodowanych liniach komórkowych. Ta stabilność zwiększa ich wykorzystanie w powtarzalnych i rozszerzonych eksperymentach biologicznych wymagających spójnego zachowania komórek.

Pod względem ekspresji białek linia komórkowa E11 wykazuje solidny profil, który jest kwintesencją badań specyficznych dla podocytów. Komórki konsekwentnie wyrażają nefrynę, niezbędny składnik struktury membrany szczelinowej w podocytach, wraz z wieloma innymi białkami specyficznymi dla podocytów, takimi jak podocyna, CD2AP i synaptopodyna. Ta kompleksowa ekspresja białek ułatwia badanie biologii podocytów w kontrolowanym środowisku in vitro, ściśle symulującym warunki in vivo. Zdolność komórek E11 do tworzenia rozległych kontaktów komórka-komórka dodatkowo podkreśla ich przydatność do modelowania funkcji bariery filtracyjnej nerek.

Organism Mysz**Tissue** Nerka**Charakterystyka****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Dorosły**Gender** Nieokreślony**Cell type** Podocyt**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** E11 (numer katalogowy Cytion 400494)

Komórki E11 | 400494

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5737
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Ta linia mysich podocytów Immorto zawiera wrażliwy na temperaturę konstrukt antygenu SV40 T umożliwiający warunkową immortalizację. Ta klasyfikacja ma zastosowanie wyłącznie w Niemczech i może różnić się w innych krajach.
-------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Dane biomolekularne

Protein expression	WT1, Lmx1b, nefryna, NEPH1, FAT, P-kadheryna, CD2AP, ZO-1, podokaliksyna, podoplanina, synpo, podocyna, TRPC6 i GAPDH.
---------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
-----------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

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

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Split ratio	Zaleca się stosunek 1:3 lub 1:5 (w temperaturze 33 stopni Celsjusza) W warunkach różnicowania, tj. inkubacji hodowli nie do konfluentnych w temperaturze 38 stopni Celsjusza, proliferacja komórek ustaje w ciągu pierwszych dwóch tygodni i zatrzymuje się po około czterech tygodniach
--------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Seeding density	Zaszczepić kolby hodowlane komórek T75 1×10^4 komórek/cm ² w celu przeprowadzenia procesu proliferacji. Przechowywać komórki w temperaturze 33 stopni Celsjusza / 5% CO ₂ , aż kolba osiągnie około 75% konfluencji.
------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
----------------------	------------------------

Komórki E11 | 400494

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

33°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki E11 | 400494

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.