

Celule E11 | 400494

Informații generale

Description

Linia celulară E11 este o linie celulară murină foarte specializată, dezvoltată pentru studii avansate privind funcția podocitelor și mecanismele bolilor renale. Derivate din glomerulii șoarecilor transgenici modificați pentru a exprima o variantă sensibilă la temperatură a antigenului T mare SV40, celulele E11 funcționează sub reglementarea promotorului H-2kb inductibil prin IFN-g. Acest cadru genetic unic facilitează proliferarea condiționată a celulelor, în funcție de temperatura mediului, care se aliniază cu expresia controlată a antigenului T.

Una dintre caracteristicile distinctive ale liniei celulare E11 este stabilitatea fenotipică a acesteia în timpul unei treceri extensive. Menținând o expresie și caracteristici celulare constante prin mai mult de 40 de treceri, celulele E11 s-au dovedit neprețuite pentru studiile pe termen lung, fără problema obișnuită a deviației fenotipice întâlnită în multe linii celulare cultivate. Această stabilitate îmbunătățește utilizarea lor în experimente biologice repetitive și extinse care necesită un comportament celular consecvent.

În ceea ce privește expresia proteinelor, linia celulară E11 prezintă un profil robust care este esențial pentru studiile specifice podocitelor. Celulele exprimă în mod constant nefrina, o componentă esențială a structurii diafragmei în fantă a podocitelor, alături de o varietate de alte proteine specifice podocitelor, cum ar fi podocina, CD2AP și sinaptopodina. Această expresie proteică cuprinzătoare facilitează studiul biologiei podocitelor într-un mediu controlat in vitro, simulând îndeaproape condițiile in vivo. Capacitatea celulelor E11 de a forma contacte extinse celulă-celulă subliniază și mai mult caracterul lor adecvat pentru modelarea funcționalităților barierei de filtrare a rinichilor.

Organism Șoarece

Tissue Rinichi

Caracteristici

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

Age Adult

Gender Nespecificat

Cell type Podocyte

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation E11 (număr de catalog Cytion 400494)

Celule E11 | 400494

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5737**GMO Status** OMG-S1: Această linie de podocite de șoarece Immorto conține o construcție de antigen T SV40 sensibilă la temperatură care permite imortalizarea condiționată. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Protein expression WT1, Lmx1b, nefrin, NEPH1, FAT, P-caderină, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 și GAPDH.

Manipulare

Culture Medium RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO₃ (număr articol Cytion 820700a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** Inoculați flacoanele de cultură celulară T75 cu 1×10^4 celule/cm² pentru procesul de proliferare. Mențineți celulele la 33 grade Celsius / 5% CO₂, până când flaconul este aproximativ 75% confluent.**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule E11 | 400494

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

33°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule E11 | 400494

**Storage
Conditions**

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.