

E11-celler | 400494**Allmän information****Description**

E11-cellinjen är en högspecialiserad cellinje från möss som utvecklats för avancerade studier av podocytfunktion och mekanismer bakom njursjukdomar. E11-cellerna härstammar från glomeruli hos transgena möss som konstruerats för att uttrycka en temperaturkänslig variant av SV40 Large T-antigen och regleras av den IFN-g-inducerbara H-2kb-promotorn. Detta unika genetiska ramverk möjliggör en villkorad proliferation av cellerna, beroende på miljötemperaturen, vilket överensstämmer med det kontrollerade uttrycket av T-antigenet.

En av de utmärkande egenskaperna hos E11-cellinjen är dess fenotypiska stabilitet efter omfattande passering. E11-cellerna bibehåller samma uttryck och cellulära egenskaper genom mer än 40 passager och har visat sig vara ovärderliga för långtidsstudier utan det vanliga problemet med fenotypisk drift som förekommer hos många odlade cellinjer. Denna stabilitet förbättrar deras användning i upprepade och utökade biologiska experiment som kräver konsekvent cellbeteende.

När det gäller proteinuttryck uppvisar E11-cellinjen en robust profil som är helt nödvändig för podocytspecifika studier. Cellerna uttrycker konsekvent nefrin, en viktig komponent i podocyternas slitmembranstruktur, tillsammans med en mängd andra podocytspecifika proteiner som podocin, CD2AP och synaptopodin. Detta omfattande proteinuttryck underlättar studier av podocyternas biologi i en kontrollerad in vitro-miljö, som nära simulerar in vivo-förhållanden. E11-cellernas förmåga att bilda omfattande cell-cellkontakter understryker ytterligare deras lämplighet för modellering av barriärfunktioner för njurfiltrering.

Organism Mus**Tissue** Njurar**Egenskaper****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Vuxen**Gender** Ospecificerad**Cell type** Podocyt**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** E11 (Cytion katalognummer 400494)

E11-celler | 400494

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5737**GMO Status** GMO-S1: Denna Immorto Mouse podocytlinje innehåller en temperaturkänslig SV40 T-antigenkonstruktion som möjliggör villkorlig immortalisering. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Protein expression** WT1, Lmx1b, nefrin, NEPH1, FAT, P-cadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 och GAPDH.**Hantering****Culture Medium** RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 eller 1:5 (vid 33 grader Celsius) rekommenderas Under differentieringsförhållanden, dvs inkubation av icke till konfluenta kulturer vid 38 grader Celsius, upphör cellproliferationen inom de första två veckorna och upphör efter cirka fyra veckor**Seeding density** Inokulera T75-celldodlingsflaskor med 1×10^4 celler/cm² för proliferationsprocessen. Håll cellerna vid 33 grader Celsius / 5 % CO₂ tills flaskan är ungefär 75 % konfluent.**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka

E11-celler | 400494

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

E11-celler | 400494

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.