

**E11 Bunky | 400494****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia E11 je vysoko špecializovaná myšia bunková línia vyvinutá na pokročilé štúdie funkcie podocytov a mechanizmov ochorení obličiek. Bunky E11, odvodené z glomerulov transgénnych myší, ktoré boli upravené tak, aby exprimovali teplotne citlivý variant veľkého T antigénu SV40, pracujú pod reguláciou promotora H-2kb indukovaného IFN-g. Tento jedinečný genetický rámec uľahčuje podmienenú proliferáciu buniek v závislosti od teploty prostredia, ktorá je v súlade s kontrolovanou expresiou antigénu T.

Jedným z charakteristických znakov bunkovej línie E11 je jej fenotypová stabilita pri rozsiahlom pasážovaní. Bunky E11 si zachovávajú konzistentnú expresiu a bunkové charakteristiky počas viac ako 40 pasáží, čo sa ukázalo ako neoceniteľné pre dlhodobé štúdie bez bežného problému fenotypového driftu, ktorý sa vyskytuje u mnohých kultivovaných bunkových línií. Táto stabilita zlepšuje ich použitie v opakovaných a dlhodobých biologických experimentoch, ktoré si vyžadujú konzistentné správanie buniek.

Pokiaľ ide o expresiu proteínov, bunková línia E11 vykazuje robustný profil, ktorý je nevyhnutný pre štúdie špecifické pre podocyty. Bunky dôsledne exprimujú nefrín, základnú zložku štruktúry štrbinovej membrány v podocytoch, spolu s množstvom ďalších proteínov špecifických pre podocyty, ako sú podocín, CD2AP a synaptopodín. Táto komplexná expresia proteínov uľahčuje štúdium biológie podocytov v kontrolovanom prostredí in vitro, ktoré presne simuluje podmienky in vivo. Schopnosť buniek E11 vytvárať rozsiahle bunkové kontakty ďalej zdôrazňuje ich vhodnosť na modelovanie funkcií filtračnej bariéry obličiek.

**Organism** Myš**Tissue** Obličky**Charakteristika****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Dospelí**Gender** Nešpecifikované**Cell type** Podocyty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** E11 (katalógové číslo Cytion 400494)**Biosafety level** 1

**E11 Bunky | 400494****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5737**GMO Status** GMO-S1: Táto línia myších podocytov Immorto obsahuje teplotne citlivý konštrukt SV40 T-antigénu, ktorý umožňuje podmienenú imortalizáciu. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** WT1, Lmx1b, nefrín, NEPH1, FAT, P-kadherín, CD2AP, ZO-1, podokalyxín, podoplanín, synpo, podocín, TRPC6 a GAPDH.**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobu Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** Na účely proliferácie naočkujte kultivačné fľaše s bunkami T75 v počte  $1 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>. Udržujte bunky pri teplote 33 °C / 5 % CO<sub>2</sub>, kým fľaša nedosiahne približne 75 % konfluencie.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## E11 Bunky | 400494

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## E11 Bunky | 400494

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.