

E11 celice | 400494**Splošne informacije****Description**

Celična linija E11 je visoko specializirana mišja celična linija, razvita za napredne študije delovanja podocitov in mehanizmov ledvičnih bolezni. Celice E11, pridobljene iz glomerulov transgenih miši, ki so bile pripravljene za izražanje temperaturno občutljive različice velikega T antigena SV40, delujejo pod nadzorom promotorja H-2kb, ki ga inducira IFN- γ . Ta edinstven genetski okvir omogoča pogojno proliferacijo celic, ki je odvisna od temperature okolja, kar je v skladu z nadzorovanim izražanjem antigena T.

Ena od razlikovalnih značilnosti celične linije E11 je njena fenotipska stabilnost pri obsežnem prehodu. Celice E11, ki ohranjajo dosledno izražanje in celične značilnosti skozi več kot 40 prehodov, so se izkazale za neprecenljive za dolgoročne študije brez običajnega problema fenotipskega odstopanja, ki se pojavlja pri številnih gojenih celičnih linijah. Ta stabilnost povečuje njihovo uporabo v ponavljajočih se in daljših bioloških poskusih, ki zahtevajo dosledno obnašanje celic.

Glede izražanja beljakovin ima celična linija E11 robusten profil, ki je bistvenega pomena za študije, specifične za podocyte. Celice dosledno izražajo nefrin, ki je bistvena sestavina strukture diafragme rež v podocitih, skupaj z vrsto drugih za podocyte specifičnih beljakovin, kot so podocin, CD2AP in sinaptopodin. To celovito izražanje proteinov olajša študij biologije podocitov v nadzorovanem okolju in vitro, ki natančno posnema pogoje in vivo. Sposobnost celic E11, da tvorijo obsežne stike med celicami, še dodatno poudarja njihovo primernost za modeliranje funkcij ledvične filtracijske pregrade.

Organism Miška**Tissue** Ledvice**Značilnosti****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Odrasli**Gender** Neopredeljeno**Cell type** Podociti**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** E11 (katalogska številka Cytion 400494)**Biosafety level** 1

E11 celice | 400494

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5737

GMO Status GSO-S1: Ta linija podocitov Immorto Mouse vsebuje temperaturno občutljiv konstrukt SV40 T-antigen, ki omogoča pogojno imortalizacijo. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression WT1, Lmx1b, nefrin, NEPH1, FAT, P-kaderin, CD2AP, ZO-1, podokaliksin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 in GAPDH.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density Za proces proliferacije inokulirajte kolbe s celično kulturo T75 z 1×10^4 celicami/cm². Celice hranite pri temperaturi 33 stopinj Celzija / 5 % CO₂, dokler kolba ni približno 75 % konfluentna.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

E11 celice | 400494**Thawing and
Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

33°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

**Freezing
Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

E11 celice | 400494

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.