

**E11 Hücreleri | 400494****Genel bilgi****Description**

E11 hücre hattı, podosit fonksiyonu ve böbrek hastalığı mekanizmalarında ileri çalışmalar için geliştirilmiş oldukça özelleşmiş bir murin hücre hattıdır. SV40 büyük T antijeninin sıcaklığa duyarlı bir varyantını ifade etmek üzere tasarlanmış transgenik farelerin glomerüllerinden türetilen E11 hücreleri, IFN-g-indüklenebilir H-2kb promotörünün düzenlemesi altında çalışır. Bu benzersiz genetik çerçeve, T antijeninin kontrollü ifadesiyle uyumlu olan çevresel sıcaklığa bağlı olarak hücrelerin koşullu çoğalmasını kolaylaştırır.

E11 hücre hattının ayırt edici özelliklerinden biri, kapsamlı pasajlama boyunca fenotipik stabilitesidir. 40'tan fazla pasaj boyunca tutarlı ifade ve hücresel özelliklerini koruyan E11 hücreleri, kültürlenmiş birçok hücre hattında görülen fenotipik kayma sorunu olmadan uzun vadeli çalışmalar için çok değerli olduğunu kanıtlamıştır. Bu kararlılık, tutarlı hücre davranışı gerektiren tekrarlayan ve genişletilmiş biyolojik deneylerde kullanımlarını artırmaktadır.

Protein ekspresyonu açısından, E11 hücre hattı podosit spesifik çalışmalar için gerekli olan sağlam bir profil sergilemektedir. Hücreler, podositlerdeki yarık diyafram yapısının temel bir bileşeni olan nefrini, podosin, CD2AP ve sinaptopodin gibi çeşitli diğer podosite özgü proteinlerin yanı sıra tutarlı bir şekilde ifade eder. Bu kapsamlı protein ifadesi, in vivo koşulları yakından taklit eden kontrollü bir in vitro ortamda podosit biyolojisinin incelenmesini kolaylaştırır. E11 hücrelerinin kapsamlı hücre-hücre temasları oluşturma kabiliyeti, böbrek filtrasyon bariyeri işlevlerini modellemek için uygunluklarının altını çizmektedir.

**Organism** Fare**Tissue** Böbrek**Özellikler****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Yetişkin**Gender** Belirtilmemiş**Cell type** Podosit**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** E11 (Cytion katalog numarası 400494)**Biosafety level** 1

**E11 Hücreleri | 400494****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5737**GMO Status** GMO-S1: Bu Immorto Fare podosit hattı, koşullu immortalizasyon sağlayan sıcaklığa duyarlı bir SV40 T-antijen yapısı içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** WT1, Lmx1b, nephrin, NEPH1, FAT, P-cadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 ve GAPDH.**Elleçleme****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** Proliferasyon süreci için T75 hücre kültürü şişelerine  $1 \times 10^4$  hücre/cm<sup>2</sup> ekleyin. Şişe yaklaşık %75 konfluent hale gelene kadar hücreleri 33 derece Celsius / %5 CO<sub>2</sub> 'de tutun.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

## E11 Hücreleri | 400494

### Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

### Incubation Atmosphere

33°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

### Flask Coating

Yok

### Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

### Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## E11 Hücreleri | 400494

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.