

E11 Клітини | 400494

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія E11 - це високоспеціалізована лінія мишачих клітин, розроблена для поглибленого вивчення функції подоцитів та механізмів розвитку захворювань нирок. Отримані з клубочків трансгенних мишей, сконструйованих для експресії термочутливого варіанту великого Т-антигену SV40, клітини E11 функціонують під регуляцією IFN-g-індукованого промотора Н-2kb. Ця унікальна генетична структура сприяє умовній проліферації клітин, залежній від температури навколишнього середовища, що узгоджується з контрольованою експресією Т-антигену.

Однією з відмінних рис клітинної лінії E11 є її фенотипічна стабільність при тривалому пасажуванні. Підтримуючи постійну експресію і клітинні характеристики протягом більш ніж 40 пасажів, клітини E11 виявилися безцінними для довгострокових досліджень, не піддаючись фенотипічному дрейфу, характерному для багатьох культивованих клітинних ліній. Ця стабільність розширює можливості їх використання в повторюваних і тривалих біологічних експериментах, що вимагають стабільної поведінки клітин.

З точки зору експресії білків, клітини лінії E11 демонструють надійний профіль, який є квінтесенцією для досліджень, специфічних для подоцитів. Клітини постійно експресують нефрин, важливий компонент структури щільної діафрагми в подоцитах, а також ряд інших специфічних для подоцитів білків, таких як подоцин, CD2AP і синаптоподин. Така комплексна експресія білків полегшує вивчення біології подоцитів у контрольованому середовищі *in vitro*, що наближається до умов *in vivo*. Здатність клітин E11 утворювати широкі міжклітинні контакти ще більше підкреслює їхню придатність для моделювання функцій фільтраційного бар'єру нирок.

Organism Миша

Tissue Нирка

Характеристики

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

Age Дорослий

Gender Не визначено

Cell type Подоцит

Growth properties Адепт

Нормативні дані

E11 Клітини | 400494

Citation	E11 (номер за каталогом Cytion 400494)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5737
GMO Status	ГМО-S1: Ця лінія подоцитів миші Immorto містить термочутливу конструкцію Т-антигену SV40, що забезпечує умовну іморталізацію. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	WT1, Lmx1b, нефрін, NEPH1, FAT, Р-кадгерин, CD2AP, ZO-1, подокаліксин, подопланін, супро, подоцин, TRPC6 і GAPDH.
---------------------------	---

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO ₃ (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хг протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	Засейте колби з культурою клітин T75 з щільністю 1×10^4 клітин/см ² для процесу проліферації. Зберігайте клітини при температурі 33 градуси Цельсія / 5% CO ₂ , доки колба не буде заповнена приблизно на 75%.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

E11 Клітини | 400494

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

33°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

E11 Клітини | 400494

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазموю виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.