Product sheet

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 H-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 щілинної 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 іммортализацію. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	WT1, Lmx1b, нефрін, NEPHI, FAT, P-кадгерин, CD2AP, ZO-I, подокаліксин, подопланін, synpo, подоцин, TRPC6 і GAPDH.

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (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 300xg 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 1x 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 кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-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, зануривши 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 x 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% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

E11 Клітини | 400494

Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 перевіреній 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 мікоплазмою 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.