

Células E11 | 400494

Información general

Description

La línea celular E11 es una línea celular murina altamente especializada desarrollada para estudios avanzados sobre la función de los podocitos y los mecanismos de la enfermedad renal. Derivadas de los glomérulos de ratones transgénicos diseñados para expresar una variante sensible a la temperatura del antígeno T grande del SV40, las células E11 funcionan bajo la regulación del promotor H-2kb inducible por IFN- γ . Este marco genético único facilita la proliferación condicional de las células, dependiente de la temperatura ambiental, lo cual se alinea con la expresión controlada del antígeno T.

Una de las características distintivas de la línea celular E11 es su estabilidad fenotípica a lo largo de numerosos pases. Al mantener una expresión y características celulares consistentes a lo largo de más de 40 pases, las células E11 han demostrado ser de un valor incalculable para estudios a largo plazo, sin el problema común de la deriva fenotípica que se observa en muchas líneas celulares cultivadas. Esta estabilidad mejora su uso en experimentos biológicos repetitivos y prolongados que requieren un comportamiento celular consistente.

En cuanto a la expresión de proteínas, la línea celular E11 presenta un perfil robusto que es fundamental para los estudios específicos de los podocitos. Las células expresan de manera constante la nefrina, un componente esencial de la estructura del diafragma de hendidura en los podocitos, junto con una variedad de otras proteínas específicas de los podocitos, como la podocina, la CD2AP y la sinaptopodina. Esta expresión proteica integral facilita el estudio de la biología de los podocitos en un entorno in vitro controlado, que simula fielmente las condiciones in vivo. La capacidad de las células E11 para formar contactos celulares extensos subraya aún más su idoneidad para modelar las funciones de la barrera de filtración renal.

Organism Ratón

Tissue Riñón

Características

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

Age Adulto

Gender Sin especificar

Cell type Podocito

Growth properties Adherente

Datos normativos

Citation E11 (número de catálogo de Cytion 400494)

Células E11 | 400494

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5737
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Esta línea de podocitos de ratón Immorto contiene un constructo del antígeno T del SV40 sensible a la temperatura que permite la inmortalización condicional. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros países.
-------------------	---

Datos biomoleculares

Protein expression	WT1, Lmx1b, nefrina, NEPH1, FAT, P-cadherina, CD2AP, ZO-1, podocalicina, podoplanina, synpo, podocina, TRPC6 y GAPDH.
---------------------------	---

Manejo

Culture Medium	RPMI 1640, con 2,0 mM de glutamina estable y 2,0 g/L de NaHCO ₃ (número de artículo de Cytion: 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.
---------------------	--

Seeding density	Inocule los frascos de cultivo celular T75 con 1×10^4 células/cm ² para el proceso de proliferación. Mantenga las células a 33 grados Celsius / 5 % de CO ₂ , hasta que el frasco alcance aproximadamente un 75 % de confluencia.
------------------------	--

Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana
----------------------	---------------------------

Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.
----------------------	---

Células E11 | 400494

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.