

Tế bào E11 | 400494**Thông tin chung****Description**

Dòng tế bào E11 là một dòng tế bào chuột được phát triển chuyên biệt cho các nghiên cứu nâng cao về chức năng của tế bào podocyte và cơ chế bệnh lý thận. Dòng tế bào E11 được phân lập từ các tiểu cầu thận của chuột biến đổi gen được thiết kế để biểu hiện một biến thể nhạy cảm với nhiệt độ của kháng nguyên T lớn SV40. Các tế bào E11 hoạt động dưới sự điều hòa của promoter H-2kb được kích hoạt bởi IFN-g. Khung gen độc đáo này cho phép sự phát triển có điều kiện của tế bào, phụ thuộc vào nhiệt độ môi trường, phù hợp với sự biểu hiện có kiểm soát của kháng nguyên T.

Một trong những đặc điểm nổi bật của dòng tế bào E11 là tính ổn định biểu hiện kiểu hình qua nhiều lần nhân bản. Duy trì biểu hiện và đặc tính tế bào nhất quán qua hơn 40 lần nhân bản, các tế bào E11 đã chứng minh giá trị to lớn cho các nghiên cứu dài hạn mà không gặp vấn đề phổ biến về sự thay đổi kiểu hình thường thấy ở nhiều dòng tế bào nuôi cấy. Tính ổn định này nâng cao khả năng sử dụng của chúng trong các thí nghiệm sinh học lặp đi lặp lại và kéo dài yêu cầu hành vi tế bào nhất quán.

Về biểu hiện protein, dòng tế bào E11 thể hiện một hồ sơ biểu hiện mạnh mẽ, đặc trưng cho các nghiên cứu về tế bào podocyte. Các tế bào này liên tục biểu hiện nephrin, một thành phần thiết yếu của cấu trúc màng khe trong tế bào podocyte, cùng với nhiều protein đặc trưng khác của podocyte như podocin, CD2AP và synaptopodin. Sự biểu hiện protein toàn diện này tạo điều kiện thuận lợi cho việc nghiên cứu sinh học podocyte trong môi trường in vitro được kiểm soát, mô phỏng gần như điều kiện in vivo. Khả năng của tế bào E11 trong việc hình thành các tiếp xúc tế bào-tế bào rộng rãi càng khẳng định tính phù hợp của chúng trong việc mô phỏng các chức năng của hàng rào lọc thận.

Organism Chuột**Tissue** Thận**Đặc điểm****Breed/Subspecies** (CBA/Ca × C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Người lớn**Gender** Không xác định**Cell type** Tế bào podocyte**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** E11 (Số catalog Cytion 400494)

Tế bào E11 | 400494

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5737
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào podocyte chuột Immorto này chứa một cấu trúc kháng nguyên T của SV40 nhạy cảm với nhiệt độ, cho phép bất tử hóa có điều kiện. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	WT1, Lmx1b, nephrin, NEPH1, FAT, P-cadherin, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanin, synpo, podocin, TRPC6 và GAPDH.
---------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Xử lý

Culture Medium	RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)
-----------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
--------------------	---------------------------------------------------------------

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

Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
---------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Seeding density	Tiêm nhiễm các bình nuôi cấy tế bào T75 với mật độ 1×10^4 tế bào/cm ² cho quá trình phát triển. Duy trì tế bào ở nhiệt độ 33°C và nồng độ CO ₂ 5%, cho đến khi bình nuôi cấy đạt khoảng 75% mật độ phủ kín.
------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần
----------------------	----------------------

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.
----------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tế bào E11 | 400494**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

33°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào E11 | 400494

**Storage
Conditions**

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.