

E11 Zellen | 400494

## Allgemeine Informationen

### Description

Die E11-Zelllinie wurde sorgfältig aus den Auswüchsen von Glomeruli geklont, die aus H-2kb-tsA58-transgenen Mäusen isoliert wurden. Diese transgenen Mäuse tragen eine temperaturempfindliche Variante des SV40 large T-Antigens, die unter der präzisen Kontrolle des IFN-g-induzierbaren H-2kb-Promotors steht.

Dieses komplizierte genetische Arrangement gewährleistet die kontrollierte Entwicklung und nachhaltige Lebensfähigkeit der E11-Zelllinie. Eine der bemerkenswertesten Eigenschaften der E11-Zelllinie ist ihre außergewöhnliche Stabilität. Forscher haben diese Zellen über mehr als 40 Passagen erfolgreich vermehrt, ohne dass phänotypische Veränderungen beobachtet wurden.

Diese anhaltende Stabilität hat rigorose Experimente und tiefgreifende Forschungen erleichtert und macht die E11-Zelllinie zu einem idealen Kandidaten für Studien zur Podozytenbiologie. Diese Zellen weisen eine stabile Expression von Nephtrin auf, einem zentralen Protein, das eng mit Podozyten assoziiert ist.

Darüber hinaus weisen sie eine bemerkenswerte Fähigkeit zur Bildung zahlreicher Zell-Zell-Kontakte auf, ein entscheidendes Merkmal zur Nachahmung des Verhaltens von Podozyten in ihrer natürlichen Umgebung.

E11-Zellen exprimieren nicht nur stabil Nephtrin, sondern weisen auch ein Spektrum anderer wichtiger Podozytenproteine auf. Zu diesem umfassenden Proteinexpressionsprofil gehören NEHP1, FAT, P-Cadherin, Podocin, CD2AP, ZO-1 (?-Isoform), Lmx1b, Podoplanin, Synaptopodin, Cortactin und Vimentin.

**Organism** Maus

**Tissue** Niere

## Merkmale

**Age** Erwachsener

**Gender** Nicht spezifiziert

**Cell type** Podozyten

**Growth properties** Adhärent

## Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

**Citation** E11 (Cytion Katalognummer 400425)

**Biosafety level** 1

**E11 Zellen | 400494**

**Expression / Mutation**

**Protein expression** WT1, Lmx1b, Nephrin, NEPH1, FAT, P-Cadherin, CD2AP, ZO-1, Podocalyxin, Podoplanin, Synpo, Podocin, TRPC6 und GAPDH.

**Handhabung**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,1 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion-Artikelnummer 820700a)

**Medium supplements** Supplemente des Mediums mit 10% FBS

**Passaging solution** Accutase

**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

**Split ratio** Ein Verhältnis von 1:3 oder 1:5 (bei 33 Grad Celsius) wird empfohlen. Unter Differenzierungsbedingungen, d. h. Bebrütung von nicht-konfluenten Kulturen bei 38 Grad Celsius, hört die Zellvermehrung innerhalb der ersten zwei Wochen auf und kommt nach etwa vier Wochen zum Stillstand

**Seeding density** Besetzen Sie T75-Zellkulturflaschen mit  $1 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup> für den Proliferationsprozess. Halten Sie die Zellen bei 33 Grad Celsius / 5% CO<sub>2</sub>, bis der Kolben zu 75% konfluent ist.

**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche

**Freeze medium** CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

### E11 Zellen | 400494

#### Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryovial nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für die sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryovial vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie die Mischung 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Optional kann die Zentrifugation übersprungen und das restliche Einfriermedium nach 24 Stunden entfernt werden.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

#### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.