

Cellule E11 | 400494**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare E11 è una linea cellulare murina altamente specializzata sviluppata per studi avanzati sulla funzione dei podociti e sui meccanismi delle malattie renali. Derivate dai glomeruli di topi transgenici ingegnerizzati per esprimere una variante sensibile alla temperatura dell'antigene SV40 large T, le cellule E11 funzionano sotto la regolazione del promotore H-2kb, inducibile con l'IFN. Questa struttura genetica unica facilita la proliferazione condizionale delle cellule, dipendente dalla temperatura ambientale, che si allinea con l'espressione controllata dell'antigene T.

Una delle caratteristiche distintive della linea cellulare E11 è la sua stabilità fenotipica attraverso un ampio passaggio. Mantenendo l'espressione e le caratteristiche cellulari costanti attraverso più di 40 passaggi, le cellule E11 si sono dimostrate preziose per gli studi a lungo termine senza il problema comune della deriva fenotipica che si riscontra in molte linee cellulari in coltura. Questa stabilità ne migliora l'uso in esperimenti biologici ripetitivi e prolungati che richiedono un comportamento cellulare coerente.

In termini di espressione proteica, la linea cellulare E11 presenta un profilo robusto che è la quintessenza degli studi specifici sui podociti. Le cellule esprimono costantemente la nefrina, un componente essenziale della struttura del diaframma a fessura dei podociti, insieme a una serie di altre proteine specifiche dei podociti come la podocina, il CD2AP e la sinaptopina. Questa espressione proteica completa facilita lo studio della biologia dei podociti in un ambiente controllato in vitro, che simula da vicino le condizioni in vivo. La capacità delle cellule E11 di formare ampi contatti cellula-cellula sottolinea ulteriormente la loro idoneità a modellare le funzionalità della barriera di filtrazione del rene.

Organism Mouse**Tissue** Rene**Caratteristiche****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Adulti**Gender** Non specificato**Cell type** Podocita**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** E11 (numero di catalogo Cytion 400494)

Cellule E11 | 400494

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5737
GMO Status	GMO-S1: questa linea di podociti di topo Immorto contiene un costrutto di antigene T SV40 sensibile alla temperatura che consente l'immortalizzazione condizionale. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

Protein expression	WT1, Lmx1b, nefrina, NEPH1, FAT, P-caderina, CD2AP, ZO-1, podocalyxin, podoplanina, synpo, podocin, TRPC6 e GAPDH.
---------------------------	--

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

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

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Split ratio	Si raccomanda un rapporto di 1:3 o 1:5 (a 33 gradi Celsius) In condizioni di differenziazione, cioè incubazione di colture non confluenti a 38 gradi Celsius, la proliferazione cellulare cessa entro le prime due settimane e si arresta dopo circa quattro settimane
--------------------	--

Seeding density	Inoculare le fiasche di coltura cellulare T75 con 1×10^4 cellule/cm ² per il processo di proliferazione. Mantenere le cellule a 33 °C / 5% _{di} CO ₂ , fino a quando la fiasca non raggiunge circa il 75% di confluenza.
------------------------	--

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Cellule E11 | 400494**Freeze medium**

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

33°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule E11 | 400494

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.