

**E11 Cellen | 400494****Algemene informatie****Description**

De E11-cel lijn is een zeer gespecialiseerde murine cel lijn die is ontwikkeld voor geavanceerd onderzoek naar de podocytenfunctie en mechanismen van nieraandoeningen. De E11 cellen zijn afgeleid van de glomeruli van transgene muizen die een temperatuursgevoelige variant van het SV40 groot T-antigeen tot expressie brengen. Ze werken onder de regulatie van de IFN-g-induceerbare H-2kb promotor. Dit unieke genetische kader vergemakkelijkt de conditionele proliferatie van de cellen, afhankelijk van de omgevingstemperatuur, wat overeenkomt met de gecontroleerde expressie van het T-antigeen.

Een van de onderscheidende kenmerken van de E11 cel lijn is de fenotypische stabiliteit bij uitgebreide passaging. E11-cellen hebben een consistente expressie en cellulaire karakteristieken gedurende meer dan 40 passages en zijn daardoor van onschatbare waarde gebleken voor langetermijnstudies zonder het veelvoorkomende probleem van fenotypische drift dat bij veel gekweekte cellijnen optreedt. Deze stabiliteit verbetert hun gebruik in herhaalde en uitgebreide biologische experimenten die consistent celgedrag vereisen.

Op het gebied van eiwitexpressie vertoont de E11 cel lijn een robuust profiel dat essentieel is voor podocyt-specifieke studies. De cellen brengen consequent nephrine tot expressie, een essentieel onderdeel van de spleetmembraanstructuur in podocyten, naast een verscheidenheid aan andere podocyt-specifieke eiwitten zoals podocine, CD2AP en synaptopodine. Deze uitgebreide eiwitexpressie vergemakkelijkt de studie van podocytenbiologie in een gecontroleerde in vitro omgeving, die de omstandigheden in vivo nauwkeurig nabootst. Het vermogen van E11 cellen om uitgebreide cel-cel contacten te vormen onderstreept verder hun geschiktheid voor het modelleren van nierfiltratie barrière functionaliteiten.

**Organism** Muis**Tissue** Nieren**Kenmerken****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Volwassen**Gender** Ongespecificeerd**Cell type** Podocyten**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** E11 (Cytion catalogusnummer 400494)

**E11 Cellen | 400494****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5737**GMO Status** GMO-S1: Deze Immorto-muispodocytenlijn bevat een temperatuurgevoelig SV40 T-antigeenconstruct dat voorwaardelijke immortalisatie mogelijk maakt. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** WT1, Lmx1b, nephrin, NEPH1, FAT, P-cadherine, CD2AP, ZO-1, podocalyxine, podoplanine, synpo, podocine, TRPC6 en GAPDH.**Omgaan met****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 of 1:5 (bij 33 graden Celsius) wordt aanbevolen. Onder differentiatieomstandigheden, dat wil zeggen incubatie van niet tot confluent culturen bij 38 graden Celsius, stopt de celproliferatie binnen de eerste twee weken en na ongeveer vier weken.**Seeding density** Inoculeer T75-celkweekflessen met  $1 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup> voor het proliferatieproces. Houd de cellen op 33 graden Celsius / 5% CO<sub>2</sub>, totdat de fles voor ongeveer 75% confluent is.**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

## E11 Cellen | 400494

### Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## E11 Cellen | 400494

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.