

Células E11 | 400494**Informações gerais****Description**

A linha celular E11 é uma linha celular murina altamente especializada, desenvolvida para estudos avançados sobre a função dos podócitos e os mecanismos das doenças renais. Derivadas dos glomérulos de ratinhos transgênicos concebidos para exprimir uma variante sensível à temperatura do antígeno SV40 large T, as células E11 funcionam sob a regulação do promotor H-2kb induzido por IFN- γ . Esta estrutura genética única facilita a proliferação condicional das células, dependente da temperatura ambiente, o que se alinha com a expressão controlada do antígeno T.

Uma das características distintivas da linha celular E11 é a sua estabilidade fenotípica através de passagens extensivas. Mantendo uma expressão consistente e características celulares ao longo de mais de 40 passagens, as células E11 provaram ser inestimáveis para estudos a longo prazo sem o problema comum de desvio fenotípico observado em muitas linhas de células cultivadas. Esta estabilidade aumenta a sua utilização em experiências biológicas repetitivas e prolongadas que exigem um comportamento celular consistente.

Em termos de expressão proteica, a linha celular E11 apresenta um perfil robusto que é essencial para estudos específicos de podócitos. As células expressam consistentemente a nefrina, um componente essencial da estrutura do diafragma da fenda nos podócitos, juntamente com uma variedade de outras proteínas específicas dos podócitos, como a podocina, o CD2AP e a sinaptopodina. Esta expressão proteica abrangente facilita o estudo da biologia dos podócitos num ambiente in vitro controlado, simulando de perto as condições in vivo. A capacidade das células E11 para formar contactos célula-célula extensos sublinha ainda mais a sua adequação para modelar as funcionalidades da barreira de filtração renal.

Organism Rato**Tissue** Rim**Caraterísticas****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Adulto**Gender** Não especificado**Cell type** Podocitos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** E11 (número de catálogo Cytion 400494)

Células E11 | 400494

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5737

GMO Status GMO-S1: Esta linha de podócitos de ratinho Immorto contém uma construção de antígeno T SV40 sensível à temperatura que permite a imortalização condicional. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

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

Manuseamento

Culture Medium RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density Inocule frascos de cultura celular T75 com 1×10^4 células/cm² para o processo de proliferação. Mantenha as células a 33 graus Celsius / 5% de CO₂, até que o frasco esteja cerca de 75% confluyente.

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células E11 | 400494**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

33°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células E11 | 400494

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.