

Cellules E11 | 400494**Renseignements généraux****Description**

La lignée cellulaire E11 est une lignée cellulaire murine hautement spécialisée, mise au point pour mener des études approfondies sur la fonction des podocytes et les mécanismes des maladies rénales. Issues des glomérules de souris transgéniques conçues pour exprimer une variante thermosensible de l'antigène T de grande taille du SV40, les cellules E11 sont régulées par le promoteur H-2kb inducible par l'IFN- γ . Ce cadre génétique unique facilite la prolifération conditionnelle des cellules, en fonction de la température ambiante, ce qui s'aligne sur l'expression contrôlée de l'antigène T.

L'une des caractéristiques distinctives de la lignée cellulaire E11 est sa stabilité phénotypique au fil de nombreux passages. Conservant une expression et des caractéristiques cellulaires constantes au-delà de 40 passages, les cellules E11 se sont révélées inestimables pour les études à long terme, sans présenter le problème courant de dérive phénotypique observé dans de nombreuses lignées cellulaires en culture. Cette stabilité favorise leur utilisation dans des expériences biologiques répétitives et de longue durée nécessitant un comportement cellulaire constant.

En matière d'expression protéique, la lignée cellulaire E11 présente un profil robuste, indispensable aux études spécifiques aux podocytes. Les cellules expriment de manière constante la néphrine, un composant essentiel de la structure du diaphragme de fente chez les podocytes, ainsi qu'une variété d'autres protéines spécifiques aux podocytes telles que la podocine, la CD2AP et la synaptopodine. Cette expression protéique complète facilite l'étude de la biologie des podocytes dans un environnement *in vitro* contrôlé, simulant étroitement les conditions *in vivo*. La capacité des cellules E11 à former des contacts intercellulaires étendus souligne encore davantage leur aptitude à modéliser les fonctionnalités de la barrière de filtration rénale.

Organism Souris**Tissue** Rein**Caractéristiques****Breed/Subspecies** (CBA/Ca \times C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Adulte**Gender** Non précisé**Cell type** Podocyte**Growth properties** Adepte**Données réglementaires**

Cellules E11 | 400494

Citation	E11 (numéro de catalogue Cytion 400494)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5737
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée de podocytes de souris « Immorto » contient une construction de l'antigène T du SV40 thermosensible permettant une immortalisation conditionnelle. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Protein expression	WT1, Lmx1b, néphrine, NEPH1, FAT, P-cadhérine, CD2AP, ZO-1, podocalyxine, podoplanine, synpo, podocine, TRPC6 et GAPDH.
---------------------------	---

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	Inoculer les flacons de culture cellulaire T75 à une densité de 1×10^4 cellules/cm ² pour le processus de prolifération. Maintenir les cellules à 33 degrés Celsius / 5 % de CO ₂ , jusqu'à ce que le flacon soit confluent à environ 75 %.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules E11 | 400494

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

33 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules E11 | 400494

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.