

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

A linhagem celular E11 é uma linhagem celular murina altamente especializada, desenvolvida para estudos avançados sobre a função dos podócitos e os mecanismos das doenças renais. Derivadas dos glomérulos de camundongos transgênicos geneticamente modificados para expressar uma variante sensível à temperatura do antígeno T grande do SV40, as células E11 operam sob a regulação do promotor H-2kb induzível por IFN- $\gamma$ . Essa estrutura genética única facilita a proliferação condicional das células, dependente da temperatura ambiente, o que se alinha à expressão controlada do antígeno T.

Uma das características distintivas da linhagem celular E11 é sua estabilidade fenotípica ao longo de passagens extensas. Mantendo expressão e características celulares consistentes ao longo de mais de 40 passagens, as células E11 têm se mostrado inestimáveis para estudos de longo prazo, sem o problema comum de deriva fenotípica observado em muitas linhagens celulares cultivadas. Essa estabilidade potencializa seu uso em experimentos biológicos repetitivos e prolongados que exigem comportamento celular consistente.

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

**Organism** Mouse**Tissue** Rim**Características****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Adulto**Gender** Não especificado**Cell type** Podócito**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** E11 (número de catálogo da Cytion 400494)

**Células E11 | 400494****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5737**GMO Status** GMO-S1: Esta linhagem de podócitos de camundongo Immorto contém uma construção do antígeno T do SV40 sensível à temperatura, que permite a imortalização condicional. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode ser diferente em outros países.**Dados biomoleculares****Protein expression** WT1, Lmx1b, nefrina, NEPH1, FAT, P-caderina, CD2AP, ZO-1, podocalicina, podoplanina, synpo, podocina, TRPC6 e GAPDH.**Manuseio****Culture Medium** RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo da Cytion: 820700a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** Inocule frascos de cultura celular T75 com  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> para o processo de proliferação. Mantenha as células a 33 graus Celsius / 5% de CO<sub>2</sub>, até que o frasco esteja cerca de 75% confluyente.**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

## Células E11 | 400494

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a  $300 \times g$  por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

### Incubation Atmosphere

$33\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5% de  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificada.

### Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente  $-150$  e  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O armazenamento a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

## Células E11 | 400494

### **Sterility**

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.