

2V6.11 Celler | 305147**Generel information****Description**

2v6.11-celler blev afledt af den humane embryonale nyrelinje HEK-293 i 2001. 2V6.11-cellelinjen er en værdifuld ressource til undersøgelse af det adenovirale E4-onkoprotein, især E4 34K-proteinet, der er kendt for at være involveret i vedligeholdelse og reparation af det cellulære genom. 2V6.11-celler, der er fremstillet ved transfektion med plasmidet pVgRxR efterfulgt af pEKORF6, resulterer i et inducerbart udtryk af E4 34K-proteinet, som er forbundet med hæmning af cellulære mekanismer, der reparerer dobbeltstrengsbrud i DNA. 2V6.11-cellelinjen viste, at de adenovirale proteiner E4 34k og E1b 55k hæmmer kromosomal DNA-reparation ved at forstyrre non-homologous end joining (NHEJ) og destabilisere DNA-reparationsproteiner, hvilket udvider deres virkning fra ekstrakromosomalt til cellulært genomisk DNA.

Den inducerbare 2V6.11-cellelinje er med sin adhærente epitel morfologi ideel til at undersøge adfærd og egenskaber hos epitelceller, der stammer fra nyrerne, herunder deres reaktion på infektioner med human adenovirus 40. Denne alsidige cellelinje, som kan påvises ved western blot, gør det muligt for forskere at dykke ned i de molekylære mekanismer, hvormed adenovirus E4-onkoproteinet hæmmer reparationsprocesser og dermed bidrager til vores forståelse af adenoviruspatologi og potentialet for at udvikle nye terapeutiske strategier.

Organism

Menneske

Tissue

Fosterets nyre

Metastatic site

Ikke relevant (fosternyre; ikke-tumorigen HEK293-derivat)

Applications

Undersøgelser af adenovirus E4-onkoproteinet; forskning i reparation af dobbeltstrengsbrud i DNA; undersøgelser af NHEJ-vejen; inducerbare E4 34k-ekspressionssystemer; virologi; adenoviruspatologi

Karakteristika**Age**

Foster

Gender

Kvinde

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Epitheliale celler

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

2V6.11 Celler | 305147

Citation	2V6.11 (Cytion katalognummer 305147)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	GMO-S1: Denne HEK293-afledte linje indeholder en adenovirus 5 E4-34k-ekspressionskonstruktion kontrolleret af en ecdyson-inducerbar promotor, der muliggør reguleret E4-proteinproduktion. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data**Håndtering**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Split ratio	1 til 5
Seeding density	1 til 3×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

2V6.11 Celler | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

2V6.11 Celler | 305147

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.