

2V6.11 Zellen | 305147

Allgemeine Informationen

Description

2v6.11-Zellen wurden 2001 von der menschlichen embryonalen Nierenlinie HEK-293 abgeleitet. Die Zelllinie 2V6.11 ist eine wertvolle Ressource für die Untersuchung des adenoviralen E4-Onkoproteins, insbesondere des E4-34K-Proteins, von dem bekannt ist, dass es an der Erhaltung und Reparatur des Zellgenoms beteiligt ist. 2V6.11-Zellen, die durch Transfektion mit dem Plasmid pVgRxR, gefolgt von pEKORF6, gewonnen werden, führen zu einer induzierbaren Expression des E4 34K-Proteins, das mit der Hemmung zellulärer Mechanismen zur Reparatur von Doppelstrangbrüchen in der DNA in Verbindung gebracht wird. Die Zelllinie 2V6.11 hat gezeigt, dass die adenoviralen Proteine E4 34k und E1b 55k die chromosomale DNA-Reparatur hemmen, indem sie die nicht-homologe Endverbindung (NHEJ) stören und die DNA-Reparaturproteine destabilisieren, wodurch ihre Wirkung von der extrachromosomalen auf die zelluläre genomische DNA ausgedehnt wird.

Die induzierbare Zelllinie 2V6.11 mit ihrer adhärenenten epithelialen Morphologie ist ideal für die Untersuchung des Verhaltens und der Eigenschaften von Epithelzellen aus der Niere, einschließlich ihrer Reaktion auf Infektionen durch das humane Adenovirus 40. Diese vielseitige Zelllinie, die mittels Western Blot nachgewiesen werden kann, ermöglicht es den Forschern, die molekularen Mechanismen zu erforschen, durch die das Adenovirus-E4-Onkoprotein Reparaturprozesse hemmt, und trägt so zu unserem Verständnis der Adenovirus-Pathologie und dem Potenzial für die Entwicklung neuer therapeutischer Strategien bei.

Organism Menschen

Tissue Fötale Niere

Merkmale

Age Fötus

Gender Weiblich

Morphology Epithelial

Growth properties Adhärenent

Regulatorische Daten

Citation 2V6.11 (Cytion Katalognummer 305147)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

2V6.11 Zellen | 305147

CellosaurusAccession CVCL_6355

GMO Status GVO-S1: Diese HEK293-Linie enthält ein Adenovirus-5-E4-34k-Expressionskonstrukt, das von einem Ecdyson-induzierbaren Promotor kontrolliert wird und eine regulierte E4-Proteinproduktion ermöglicht. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

2V6.11 Zellen | 305147

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

**Freezing
Procedure**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

2V6.11 Zellen | 305147

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 7,11,12
D13S317: 12,14
D16S539: 9,13
D5S818: 8,9
D7S820: 11
TH01: 7,9,3
TPOX: 11
vWA: 16,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 28,30,2
D18S51: 17,19
Penta E: 7,15
Penta D: 9,10
D8S1179: 12,14
FGA: 23
D6S1043: 11
D2S1338: 19
D12S391: 19,21
D19S433: 15,18