

2V6.11 Cellules | 305147**Informations générales****Description**

les cellules 2v6.11 ont été dérivées de la lignée rénale embryonnaire humaine HEK-293 en 2001. La lignée cellulaire 2V6.11 est une ressource précieuse pour l'étude de l'oncoprotéine adénovirale E4, en particulier la protéine E4 34K connue pour être impliquée dans la maintenance et la réparation du génome cellulaire. les cellules 2V6.11, obtenues par transfection avec le plasmide pVgRxR suivi de pEKORF6, entraînent l'expression inductible de la protéine E4 34K, qui est liée à l'inhibition des mécanismes cellulaires qui réparent les cassures double brin de l'ADN. La lignée cellulaire 2V6.11 a démontré que les protéines adénovirales E4 34k et E1b 55k inhibent la réparation de l'ADN chromosomique en perturbant la jonction non homologue (NHEJ) et en déstabilisant les protéines de réparation de l'ADN, étendant leur effet de l'ADN extrachromosomique à l'ADN génomique cellulaire.

La lignée cellulaire inductible 2V6.11, avec sa morphologie épithéliale adhérente, est idéale pour étudier le comportement et les caractéristiques des cellules épithéliales dérivées du rein, y compris leur réponse aux infections par l'adénovirus humain 40. Cette lignée cellulaire polyvalente, qui peut être détectée par western blot, permet aux chercheurs d'étudier les mécanismes moléculaires par lesquels l'oncoprotéine E4 de l'adénovirus inhibe les processus de réparation, contribuant ainsi à notre compréhension de la pathologie de l'adénovirus et à la possibilité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Organism Humain**Tissue** Rein foetal**Caractéristiques****Age** Foetus**Gender** Femme**Morphology** Épithéliale**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** 2V6.11 (numéro de catalogue Cytion 305147)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

2V6.11 Cellules | 305147**CellosaurusAccession** CVCL_6355**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée dérivée de HEK293 contient une construction d'expression de l'adénovirus 5 E4-34k contrôlée par un promoteur inductible à l'ecdysone, permettant une production régulée de la protéine E4. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer dans d'autres pays.**Données biomoléculaires****Manipulation****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO₃, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

2V6.11 Cellules | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

2V6.11 Cellules | 305147

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

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

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

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

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

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