

2V6.11 Celle | 305147**Informazioni generali****Description**

Le cellule 2v6.11 sono state derivate dalla linea di rene embrionale umano HEK-293 nel 2001. La linea cellulare 2V6.11 è una risorsa preziosa per lo studio dell'oncoproteina adenovirale E4, in particolare della proteina E4 34K, nota per essere coinvolta nel mantenimento e nella riparazione del genoma cellulare. Le cellule 2V6.11, ottenute mediante trasfezione con il plasmide pVgRxR seguito da pEKORF6, determinano l'espressione inducibile della proteina E4 34K, che è legata all'inibizione dei meccanismi cellulari che riparano le rotture a doppio filamento del DNA. La linea cellulare 2V6.11 ha dimostrato che le proteine adenovirali E4 34k e E1b 55k inibiscono la riparazione del DNA cromosomico interrompendo la giunzione delle estremità non omologhe (NHEJ) e destabilizzando le proteine di riparazione del DNA, estendendo il loro effetto dal DNA genomico extracromosomico a quello cellulare.

La linea cellulare inducibile 2V6.11, con la sua morfologia epiteliale aderente, è ideale per studiare il comportamento e le caratteristiche delle cellule epiteliali derivate dal rene, compresa la loro risposta alle infezioni da adenovirus 40 umano. Questa linea cellulare versatile, che può essere rilevata mediante western blot, consente ai ricercatori di approfondire i meccanismi molecolari con cui l'oncoproteina E4 dell'adenovirus inibisce i processi di riparazione, contribuendo così alla comprensione della patologia dell'adenovirus e al potenziale sviluppo di nuove strategie terapeutiche.

Organism

Umano

Tissue

Rene fetale

Metastatic site

Non applicabile (rene fetale; derivato non tumorigenico delle cellule HEK293)

Applications

Studi sull'oncoproteina E4 dell'adenovirus; ricerca sulla riparazione delle rotture a doppio filamento del DNA; studi sulla via NHEJ; sistemi di espressione inducibili dell'E4 da 34k; virologia; patologia dell'adenovirus

Caratteristiche**Age**

Feto

Gender

Donna

Morphology

Simile all'epitelio

Cell type

Cellule epiteliali

Growth properties

Aderente

Dati normativi

2V6.11 Celle | 305147

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | 2V6.11 (numero di catalogo Cytion 305147) |
| Biosafety level | 2 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_6355 |
| GMO Status | GMO-S1: questa linea derivata da HEK293 contiene un costrutto di espressione di adenovirus 5 E4-34k controllato da un promotore inducibile con ecdysone, che consente la produzione regolata della proteina E4. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove. |

Dati biomolecolari**Manipolazione**

| | |
|-----------------------------|---|
| Culture Medium | EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a) |
| Supplements | Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Subculturing | Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco. |
| Split ratio | Da 1 a 5 |
| Seeding density | da 1 a 3×10^4 cellule/cm ² |
| Fluid renewal | da 2 a 3 volte alla settimana |
| Freeze medium | Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto. |

2V6.11 Celle | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

2V6.11 Celle | 305147

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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