

2V6.11 Cellen | 305147**Algemene informatie****Description**

2v6.11 cellen werden afgeleid van de menselijke embryonale nierlijn HEK-293 in 2001. De 2V6.11 cellijn is een waardevolle bron voor het bestuderen van het adenovirale E4 oncoproteïne, met name het E4 34K eiwit waarvan bekend is dat het betrokken is bij cellulair genoombehoud en -herstel. 2V6.11-cellen, verkregen door transfectie met het plasmide pVgRxR gevolgd door pEKORF6, resulteren in induceerbare expressie van het E4 34K-eiwit, dat in verband wordt gebracht met de remming van cellulaire mechanismen die dubbelstrengsbreuken in DNA repareren. De 2V6.11 cellijn toonde aan dat de adenovirale eiwitten E4 34k en E1b 55k chromosomaal DNA-herstel remmen door het verstoren van non-homologous end joining (NHEJ) en het destabiliseren van DNA-herstellingseiwitten, waardoor hun effect zich uitbreidt van extrachromosomaal naar cellulair genomisch DNA.

De 2V6.11 induceerbare cellijn, met hun adherente epitheliale morfologie, zijn ideaal voor het onderzoeken van het gedrag en de eigenschappen van nier-afgeleide epitheelcellen, inclusief hun reactie op infecties door humaan adenovirus 40. Deze veelzijdige cellijn, die kan worden gedetecteerd door middel van western blot, stelt onderzoekers in staat om de moleculaire mechanismen te onderzoeken waarmee de adenovirus E4 oncoproteïne herstelprocessen remt, en zo bij te dragen aan ons begrip van de pathologie van adenovirus en het potentieel voor de ontwikkeling van nieuwe therapeutische strategieën.

Organism

Mens

Tissue

Foetale nier

Metastatic site

Niet van toepassing (foetale nier; niet-tumorogene afgeleide van HEK293)

Applications

Onderzoek naar het E4-oncoproteïne van het adenovirus; onderzoek naar het herstel van dubbelstrengsbreuken in het DNA; onderzoek naar de NHEJ-route; induceerbare E4-34k-expressiesystemen; virologie; adenoviruspathologie

Kenmerken**Age**

Foetus

Gender

Vrouw

Morphology

Epitheelachtig

Cell type

Epitheelcellen

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

2V6.11 Cellen | 305147

Citation	2V6.11 (Cytion catalogusnummer 305147)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	GMO-S1: Deze van HEK293 afgeleide lijn bevat een adenovirus 5 E4-34k expressieconstruct dat wordt aangestuurd door een ecdyson-induceerbare promotor, waardoor gereguleerde E4-eiwitproductie mogelijk is. Deze classificatie is alleen van toepassing in Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens**Omgaan met**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	1 tot en met 5
Seeding density	1 tot 3×10^4 cellen/cm ²
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

2V6.11 Cellen | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

2V6.11 Cellen | 305147

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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