

2V6.11 Celler | 305147**Generell informasjon****Description**

2V6.11-celler ble avledet fra den humane embryonale nyrelinjen HEK-293 i 2001. 2V6.11-cellelinjen er en verdifull ressurs for studier av det adenovirale E4-onkoproteinet, særlig E4 34K-proteinet, som er kjent for å være involvert i vedlikehold og reparasjon av genomet i celler. 2V6.11-celler, som er fremstilt ved transfeksjon med plasmidet pVgRxR etterfulgt av pEKORF6, resulterer i induserbart uttrykk av E4 34K-proteinet, som er knyttet til hemming av cellulære mekanismer som reparerer dobbeltstrengbrudd i DNA. 2V6.11-cellelinjen viste at de adenovirale proteinene E4 34k og E1b 55k hemmer kromosomal DNA-reparasjon ved å forstyrre non-homologous end joining (NHEJ) og destabilisere DNA-reparasjonsproteiner, slik at effekten utvides fra ekstrakromosomalt til cellulært genomisk DNA.

Den induserbare cellelinjen 2V6.11, med sin adherente epitel morfologi, er ideell for å undersøke oppførselen og egenskapene til epitelceller som stammer fra nyrene, inkludert deres respons på infeksjoner med humant adenovirus 40. Denne allsidige cellelinjen, som kan detekteres ved hjelp av western blot, gjør det mulig for forskere å se nærmere på de molekylære mekanismene som gjør at adenovirus E4-onkoproteinet hemmer reparasjonsprosesser, og bidrar dermed til vår forståelse av adenoviruspatologi og potensialet for å utvikle nye terapeutiske strategier.

Organism Menneskelig**Tissue** Fosterets nyre**Kjennetegn****Age** Foster**Gender** Kvinne**Morphology** Epitelial**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** 2V6.11 (Cytion-katalognummer 305147)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6355

2V6.11 Celler | 305147**GMO Status**

GMO-S1: Denne HEK293-avlede linjen inneholder en adenovirus 5 E4-34k-ekspresjonskonstruksjon kontrollert av en ecdyson-inducerbar promotor, noe som muliggjør regulert produksjon av E4-protein. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data**Håndtering****Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)

Supplements

Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

2V6.11 Celler | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

2V6.11 Celler | 305147

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

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