

2V6.11 Células | 305147**Informações gerais****Description**

as células 2v6.11 foram derivadas da linha de rim embrionário humano HEK-293 em 2001. A linha celular 2V6.11 é um recurso valioso para o estudo da oncoproteína adenoviral E4, em particular da proteína E4 34K, conhecida por estar envolvida na manutenção e reparação do genoma celular. as células 2V6.11, obtidas por transfecção com o plasmídeo pVgRxR seguido de pEKORF6, resultam na expressão induzida da proteína E4 34K, que está associada à inibição dos mecanismos celulares de reparação das quebras de cadeia dupla no ADN. A linha de células 2V6.11 demonstrou que as proteínas adenovirais E4 34k e E1b 55k inibem a reparação do ADN cromossômico, perturbando a junção de extremidades não homólogas (NHEJ) e desestabilizando as proteínas de reparação do ADN, estendendo o seu efeito do ADN extracromossômico ao ADN genômico celular.

A linha celular induzível 2V6.11, com a sua morfologia epitelial aderente, é ideal para investigar o comportamento e as características das células epiteliais derivadas do rim, incluindo a sua resposta a infecções por adenovírus humano 40. Esta linha celular versátil, que pode ser detectada por western blot, permite aos investigadores aprofundar os mecanismos moleculares através dos quais a oncoproteína E4 do adenovírus inibe os processos de reparação, contribuindo assim para a nossa compreensão da patologia do adenovírus e para o potencial desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

Organism Humano**Tissue** Rim fetal**Caraterísticas****Age** Feto**Gender** Feminino**Morphology** Epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** 2V6.11 (número de catálogo Cytion 305147)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6355

2V6.11 Células | 305147

GMO Status OGM-S1: Esta linha derivada de HEK293 contém uma construção de expressão E4-34k do adenovírus 5 controlada por um promotor induzido pela ecdisona, que permite a produção regulada da proteína E4. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Manuseamento

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

2V6.11 Células | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

2V6.11 Células | 305147

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Perfil 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: 9,1
D8S1179: 12,14
FGA: 23
D6S1043: 11
D2S1338: 19
D12S391: 19,21
D19S433: 15,18