Product sheet

2V6.11 Celule | 305147

Informații generale

Description	celulele 2v6.11 au fost derivate din linia de rinichi embrionar uman HEK-293 în 2001. Linia celulară 2V6.11 este o resursă valoroasă pentru studierea oncoproteinei adenovirale E4, în special a proteinei E4 34K, despre care se știe că este implicată în menținerea și repararea genomului celular. celulele 2V6.11, obținute prin transfecția cu plasmida pVgRxR urmată de pEKORF6, determină expresia inductibilă a proteinei E4 34K, care este legată de inhibarea mecanismelor celulare care repară ruperile de dublu șir în ADN. Linia celulară 2V6.11 a demonstrat că proteinele adenovirale E4 34k și E1b 55k inhibă repararea ADN-ului cromozomal prin perturbarea îmbinării extremităților neomoloage (NHEJ) și destabilizarea proteinelor de reparare a ADN-ului, extinzând efectul lor de la ADN-ul genomic extracromosomal la cel celular. Linia celulară inductibilă 2V6.11, cu morfologia sa epitelială aderentă, este ideală pentru investigarea comportamentului și caracteristicilor celulelor epiteliale derivate din rinichi, inclusiv răspunsul acestora la infecțiile cu adenovirus uman 40. Această linie celulară versatilă, care poate fi detectată prin Western Blot, permite cercetătorilor să aprofundeze mecanismele moleculare prin care oncoproteina E4 a adenovirusului inhibă procesele de reparare, contribuind astfel la înțelegerea patologiei adenovirusului și la potențialul de dezvoltare a unor noi strategii terapeutice.
Organism	Om
Tissue	Rinichi fetal
Metastatic site	Nu se aplică (rinichi fetal; derivat HEK293 netumorigenic)
Applications	Studii privind oncoproteina E4 a adenovirusului; cercetări privind repararea rupturilor dublu-catenare ale ADN-ului; studii privind calea NHEJ; sisteme de expresie inducibile ale proteinei E4 de 34k; virologie; patologia adenovirusului

Caracteristici

Age	Fetusul
Gender	Femei
Morphology	De tip epitelial
Cell type	Celule epiteliale
Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Product sheet

2V6.11 Celule | 305147

Citation	2V6.11 (număr de catalog Cytion 305147)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	OMG-S1: Această linie derivată din HEK293 conține o construcție de expresie a adenovirusului 5 E4-34k controlată de un promotor indus de ecdysone, permițând producerea reglementată a proteinei E4. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Split ratio	de la 1 la 5
Seeding density	1 până la 3×10^4 celule/cm^2
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

2V6.11 Celule | 305147

Thawing and Culturing Cells	1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului. 2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată. 3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață. 4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere. 5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor. 6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual. 7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă. 8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.