

2V6.11 Celler | 305147**Allmän information****Description**

2v6.11-cellerna härstammar från den humana embryonala njurlinjen HEK-293 från 2001. Cellinjen 2V6.11 är en värdefull resurs för studier av det adenovirala E4-onkoproteinet, särskilt E4 34K-proteinet som är känt för att vara involverat i underhåll och reparation av cellgenom. 2V6.11-celler, som erhållits genom transfektion med plasmiden pVgRxR följt av pEKORF6, resulterar i ett inducerbart uttryck av E4 34K-proteinet, vilket är kopplat till hämning av cellulära mekanismer som reparerar dubbelsträngsbrott i DNA. Cellinjen 2V6.11 visade att de adenovirala proteinerna E4 34k och E1b 55k hämmar kromosomal DNA-reparation genom att störa NHEJ (non-homologous end joining) och destabilisera DNA-reparationsproteiner, vilket utvidgar deras effekt från extrakromosomalt till cellulärt genomiskt DNA.

Den inducerbara cellinjen 2V6.11, med sin adherenta epitel morfologi, är idealisk för att undersöka beteende och egenskaper hos epitelceller från njurar, inklusive deras svar på infektioner med humant adenovirus 40. Denna mångsidiga cellinje, som kan detekteras med western blot, gör det möjligt för forskare att fördjupa sig i de molekylära mekanismer genom vilka adenovirus E4-onkoproteinet hämmar reparationsprocesser, vilket bidrar till vår förståelse av adenoviruspatologi och potentialen för att utveckla nya terapeutiska strategier.

Organism Människan**Tissue** Fetal njure**Egenskaper****Age** Foster**Gender** Kvinna**Morphology** Epitelial**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** 2V6.11 (Cytion katalognummer 305147)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6355

2V6.11 Celler | 305147

GMO Status

GMO-S1: Denna HEK293-deriverade linje innehåller en adenovirus 5 E4-34k-uttryckskonstruktion som styrs av en ecdysoninducerbar promotor, vilket möjliggör reglerad E4-proteinproduktion. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium

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

Supplements

Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

2V6.11 Celler | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

2V6.11 Celler | 305147

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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