Product sheet

2V6.11 Células | 305147

Informações gerais

Description	As células 2V6.11 foram derivadas da linhagem renal embrionária humana HEK-293 em 2001. A linhagem celular 2V6.11 é um recurso valioso para o estudo da oncoproteína E4 do adenovírus, particularmente da proteína E4 34K, conhecida por estar envolvida na manutenção e no reparo do genoma celular. As células 2V6.11, obtidas por meio da transfecção com o plasmídeo pVgRxR seguida pelo pEKORF6, resultam na expressão induzível da proteína E4 34K, que está associada à inibição dos mecanismos celulares responsáveis pelo reparo de quebras de fita dupla no DNA. A linhagem celular 2V6.11 demonstrou que as proteínas adenovirais E4 34k e E1b 55k inibem o reparo do DNA cromossômico ao interromper a junção de extremidades não homólogas (NHEJ) e desestabilizar as proteínas de reparo do DNA, estendendo seu efeito do DNA extracromossômico ao DNA genômico celular. A linhagem celular induzível 2V6.11, com sua morfologia epitelial aderente, é ideal para investigar o comportamento e as características das células epiteliais derivadas do rim, incluindo sua resposta a infecções pelo adenovírus humano 40. Essa linhagem celular versátil, que pode ser detectada por western blot, permite que os pesquisadores aprofundem os mecanismos moleculares pelos quais a oncoproteína E4 do adenovírus inibe os processos de reparo, contribuindo assim para nossa compreensão da patologia do adenovírus e para o potencial de desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.
Organism	Humano
Tissue	Rim fetal
Metastatic site	Não aplicável (rim fetal; derivado de HEK293 não tumorigênico)
Applications	Estudos sobre a oncoproteína E4 do adenovírus; pesquisa sobre o reparo de quebras de fita dupla de DNA; estudos sobre a via NHEJ; sistemas de expressão induzível da E4 de 34k; virologia; patologia do adenovírus

Características

Age	Feto
Gender	Mulher
Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliais
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

Product sheet

2V6.11 Células | 305147

Citation	2V6.11 (número de catálogo da Cytion 305147)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	GMO-S1: Esta linhagem derivada de HEK293 contém uma construção de expressão da proteína E4-34k do adenovírus 5, controlada por um promotor induzível por ecdisona, permitindo a produção regulada da proteína E4. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.

Dados biomoleculares

Manuseio

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1 a 5
Seeding density	1 a 3 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente. 6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual. 7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes. 8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

2V6.11 Células | 305147

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.