

2V6.11 Клетки | 305147**Обща информация****Description**

клетките 2v6.11 са получени от човешката ембрионална бъбречна линия HEK-293 през 2001 г. Клетъчната линия 2V6.11 е ценен ресурс за изучаване на аденовирусния онкопротеин E4, особено на протеина E4 34K, за който е известно, че участва в поддържането и възстановяването на клетъчния геном. клетките 2V6.11, получени чрез трансфекция с плазмид pVgRxR, последван от rEKORF6, водят до индуцируема експресия на протеина E4 34K, която е свързана с инхибиране на клетъчните механизми, които поправят двойните верижни прекъсвания в ДНК. Клетъчната линия 2V6.11 демонстрира, че аденовирусните протеини E4 34k и E1b 55k инхибират хромозомната ДНК репарация, като нарушават нехомоложното свързване на краищата (NHEJ) и дестабилизируют ДНК репарационните протеини, разширявайки ефекта си от екстрахромозомната към клетъчната геномна ДНК.

Индуцируемата клетъчна линия 2V6.11, с нейната адхезивна епителна морфология, е идеална за изследване на поведението и характеристиките на епителните клетки, получени от бъбреците, включително отговора им към инфекции с човешки аденовирус 40. Тази универсална клетъчна линия, която може да бъде открита чрез Western blot, дава възможност на изследователите да вникнат в молекулярните механизми, чрез които аденовирусният E4 онкопротеин потиска възстановителните процеси, като по този начин допринася за разбирането ни на аденовирусната патология и потенциала за разработване на нови терапевтични стратегии.

Organism

Човек

Tissue

Фетален бъбрек

Metastatic site

Неприложимо (фетален бъбрек; нетуморогенно производно на HEK293)

Applications

Изследвания на онкопротеина E4 на аденовируса; изследвания върху репарацията на двойноверижни разкъсвания на ДНК; изследвания на NHEJ пътя; системи за индуцируема експресия на E4 34k; вирусология; патология на аденовируса

Характеристики**Age**

Плод

Gender

Жена

Morphology

Подобни на епител

Cell type

Епителни клетки

Growth properties

Придържачи се

2V6.11 Клетки | 305147

Регулаторни данни

Citation	2V6.11 (каталожен номер 305147 на Cytion)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	GMO-S1: Тази линия, получена от HEK293, съдържа аденовирус 5 E4-34k експресивен конструкт, контролиран от индуцируем от екдизон промотор, което позволява регулирано производство на протеин E4. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	от 1 до 3×10^4 клетки/см ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

2V6.11 Клетки | 305147**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

2V6.11 Клетки | 305147

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.