Product sheet

2V6.11 Buňky | 305147

Obecné informace

Description	buňky 2v6.11 byly odvozeny z linie lidských embryonálních ledvin HEK-293 v roce 2001. Buněčná linie 2V6.11 je cenným zdrojem pro studium adenovirového onkoproteinu E4, zejména proteinu E4 34K, o němž je známo, že se podílí na údržbě a opravě buněčného genomu. buňky 2V6.11, získané transfekcí plazmidem pVgRxR a následně pEKORF6, mají za následek indukovatelnou expresi proteinu E4 34K, která je spojena s inhibicí buněčných mechanismů opravujících dvouřetězcové zlomy v DNA. Buněčná linie 2V6.11 prokázala, že adenovirové proteiny E4 34k a E1b 55k inhibují opravu chromozomální DNA narušením nehomologního spojování konců (NHEJ) a destabilizací opravných proteinů DNA, čímž se jejich účinek rozšiřuje z extrachromozomální na buněčnou genomickou DNA. Indukovatelná buněčná linie 2V6.11 s adherentní epiteliální morfologií je ideální pro zkoumání chování a vlastností epiteliálních buněk odvozených od ledvin, včetně jejich reakce na infekce lidským adenovirem 40. Tato univerzální buněčná linie, kterou lze detekovat pomocí Western blotu, umožňuje výzkumníkům proniknout do molekulárních mechanismů, kterými onkoprotein adenoviru E4 inhibuje reparační procesy, a přispět tak k pochopení patologie adenovirů a potenciálu pro vývoj nových terapeutických strategií.
Organism	Člověk
Tissue	Fetální ledvina
Metastatic site	Nevztahuje se (plodová ledvina; netumorogenní derivát buněk HEK293)
Applications	Studie onkoproteinu E4 adenoviru; výzkum opravy dvojřetězcových zlomů DNA; studie dráhy NHEJ; systémy indukovatelné exprese E4 34k; virologie; patologie adenoviru

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epitelové buňky
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	2V6.11 (katalogové číslo Cytion 305147)

2V6.11 Buňky | 305147

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	GMO-S1: Tato linie odvozená od HEK293 obsahuje expresní konstrukt adenoviru 5 E4-34k řízený promotorem indukovatelným ekdysonem, který umožňuje regulovanou produkci proteinu E4. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1 až 5
Seeding density	1 až 3 × 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

2V6.11 Buňky | 305147

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

2V6.11 Buňky | 305147

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil 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**: 9,10 **D8S1179**: 12,14 **FGA**: 23 **D6S1043**: 11 **D2S1338**: 19 **D12S391**: 19,21 **D19S433**: 15,18