

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; netumorigenní 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** Doplněte 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, 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/cm²**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 zmrazená, 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 odstředujte 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 % CO_2 , 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 / Genetický profil / HLA

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