Product sheet

2V6.11 Κύτταρα | 305147

Γενικές πληροφορίες

Description	τα κύτταρα 2v6.11 προήλθαν από την ανθρώπινη εμβρυϊκή νεφρική σειρά HEK-293 το 2001. Η κυτταρική σειρά 2V6.11 αποτελεί πολύτιμη πηγή για τη μελέτη της ογκοπρωτεΐνης E4 του αδενοϊού, ιδίως της πρωτεΐνης E4 34K που είναι γνωστό ότι εμπλέκεται στη συντήρηση και την επιδιόρθωση του κυτταρικού γονιδιώματος. τα κύτταρα 2V6.11, τα οποία λαμβάνονται μέσω διαμόλυνσης με το πλασμίδιο pVgRxR ακολουθούμενο από pEKORF6, έχουν ως αποτέλεσμα την επαγώγιμη έκφραση της πρωτεΐνης E4 34K, η οποία συνδέεται με την αναστολή των κυτταρικών μηχανισμών που επιδιορθώνουν τις διπλές ρήξεις στο DNA. Η κυτταρική σειρά 2V6.11 έδειξε ότι οι αδενοϊικές πρωτεΐνες E4 34k και E1b 55k αναστέλλουν την επιδιόρθωση του χρωμοσωμικού DNA διαταράσσοντας τη μη ομόλογη σύνδεση άκρων (NHEJ) και αποσταθεροποιώντας τις πρωτεΐνες επιδιόρθωσης του DNA, επεκτείνοντας την επίδρασή τους από το εξωχρωμοσωμικό στο κυτταρικό γονιδιωματικό DNA. Η επαγώγιμη κυτταρική σειρά 2V6.11, με την προσκολλημένη επιθηλιακή μορφολογία της, είναι ιδανική για τη διερεύνηση της συμπεριφοράς και των χαρακτηριστικών των επιθηλιακών κυττάρων που προέρχονται από τους νεφρούς, συμπεριλαμβανομένης της απόκρισής τους στις λοιμώξεις από τον ανθρώπινο αδενοϊό 40. Αυτή η ευέλικτη κυτταρική σειρά, η οποία μπορεί να ανιχνευθεί με western blot, επιτρέπει στους ερευνητές να εμβαθύνουν στους μοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους η ογκοπρωτεΐνη E4 του αδενοϊού αναστέλλει τις διαδικασίες επιδιόρθωσης, συμβάλλοντας έτσι στην κατανόηση της παθολογίας του αδενοϊού και στη δυνατότητα ανάπτυξης νέων θεραπευτικών στρατηγικών.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εμβρυϊκός νεφρός
Metastatic site	Δεν ισχύει (νεφρό εμβρύου· μη ογκογόνο παράγωγο HEK293)
Applications	Μελέτες σχετικά με την ογκοπρωτεΐνη E4 του αδενοϊού· έρευνα για την επιδιόρθωση θραύσεων διπλής έλικας του DNA· μελέτες σχετικά με την οδό NHEJ· συστήματα επαγωγικής έκφρασης της E4 34k· ιολογία· παθολογία του αδενοϊού

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

2V6.11 Κύτταρα | 305147

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	2V6.11 (αριθμός καταλόγου Cytion 305147)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	ΓΤΟ-S1: Αυτή η γραμμή που προέρχεται από HEK293 περιέχει ένα κατασκεύασμα έκφρασης αδενοϊού 5 E4-34k που ελέγχεται από έναν υποκινητή που επάγεται από την εκδυσόνη, επιτρέποντας τη ρυθμιζόμενη παραγωγή πρωτεΐνης E4. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	1 έως 3 × 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

2V6.11 Κύτταρα | 305147

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.
Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης. 7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων. 8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

2V6.11 Κύτταρα | 305147

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.