

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 επαγωγή 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 αδενοϊκές 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 επαγωγή 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 στρατηγιών.

Organism Ανθρώπινο**Tissue** Εμβρυϊκός νεφρός**Χαρακτηριστικά****Age** Έμβρυο**Gender** Γυναίκα**Morphology** Επιθηλιακό**Growth properties** Προσκολλημένο**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** 2V6.11 (αριθμός καταλόγου Cytion 305147)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

2V6.11 Κύτταρα | 305147**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 ταξινομήση 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.

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.

2V6.11 Κύτταρα | 305147**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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες 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.

2V6.11 Κύτταρα | 305147

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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

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.