Product sheet

2V6.11 Rakud | 305147

Üldine teave

Description	2v6.11 rakud on saadud 2001. aastal inimese embrüonaalsest neeruliinist HEK-293. Rakuliin 2V6.11 on väärtuslik ressurss adenoviiruse E4 onkoproteiini, eriti E4 34K valgu uurimiseks, mis teadaolevalt osaleb raku genoomi säilitamises ja parandamises. 2V6.11 rakud, mis on saadud plasmiidi pVgRxR ja seejärel pEKORF6 transfektsiooniga, põhjustavad E4 34K valgu indutseeritavat ekspressiooni, mis on seotud DNA kahesooneliste katkestuste parandamise mehhanismide pärssimisega rakus. Rakuliin 2V6.11 näitas, et adenoviirivalgud E4 34k ja E1b 55k pärsivad kromosomaalse DNA parandamist, häirides mittehomoloogilist lõppliitumist (NHEJ) ja destabiliseerides DNA parandamise valke, laiendades oma mõju ekstrakromosomaalsest DNA-st rakulise genoomi DNA-le. 2V6.11 indutseeritav rakuliin, mille adherentne epiteelimorfoloogia on ideaalne neerust saadud epiteelirakkude käitumise ja omaduste uurimiseks, sealhulgas nende reaktsioon inimese adenoviiruse 40 infektsioonidele. See mitmekülgne rakuliin, mida saab tuvastada Western blot'i abil, võimaldab teadlastel uurida molekulaarseid mehhanisme, mille abil adenoviiruse E4 onkoproteiin inhibeerib remondiprotsesse, aidates seega kaasa meie arusaamisele adenoviiruse patoloogiast ja uute ravistrateegiate väljatöötamise võimalikkusest.
Organism	Inimene
Tissue	Loote neerud
Metastatic site	Ei kohaldata (loote neer; mittetumorigeenne HEK293-derivaat)
Applications	Adenoviiruse E4 onkoproteiini uuringud; DNA kahe ahela murru parandamise uuringud; NHEJ-signaalitee uuringud; indutseeritavad E4 34k ekspressioonisüsteemid; viroloogia; adenoviiruse patoloogia

Omadused

Age	Loote
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Epiteelirakud
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	2V6.11 (Cytioni kataloginumber 305147)

2V6.11 Rakud | 305147

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	GMO-S1: See HEK293-st saadud liin sisaldab adenoviiruse 5 E4-34k ekspressioonikonstrukti, mida kontrollib ecdysoon-indutseeritav promootor, mis võimaldab reguleeritud E4 valgu tootmist. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1–5
Seeding density	1–3 × 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

2V6.11 Rakud | 305147

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.