

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 valguga uurimiseks, mis teadaolevalt osaleb raku genoomi säilitamises ja parandamises. 2V6.11 rakud, mis on saadud plasmiidiga pVgRxR ja seejärel pEKORF6 transfektsiooniga, põhjustavad E4 34K valguga indutseeritavat ekspressiooni, mis on seotud DNA kahesoone katkestuste parandamise mehhanismide pärssimisega rakus. Rakuliin 2V6.11 näitas, et adenoviirivalgud E4 34k ja E1b 55k pärsvad kromosomaalse DNA parandamist, häirides mittehomoogilist lõpluutamist (NHEJ) ja destabiliseerides DNA parandamise valke, laiendades oma mõju ekstrakromosomaalsest DNA-st rakulise genoomi DNA-le.

2V6.11 indutseeritav rakuliin, mille adherentne epiteelomorfoloogia on ideaalne neerust pärinevate 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**

2V6.11 Rakud | 305147

Citation	2V6.11 (Cytioni katalooginumber 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 valgus 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 NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel 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 need resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 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 katalooginumber 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 vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

2V6.11 Rakud | 305147

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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.