

2V6.11 Kennot | 305147

Yleisiä tietoja

Description

2V6.11-solut johdettiin ihmisen alkion munuaislinjasta HEK-293 vuonna 2001. 2V6.11-solulinja on arvokas resurssi adenoviruksen E4-onkoproteiinin tutkimiseen, erityisesti E4 34K -proteiinin, jonka tiedetään osallistuvan solujen genomien ylläpitoon ja korjaamiseen. 2V6.11-solut, jotka on saatu transfektoimalla plasmidilla pVgRxR ja sen jälkeen pEKORF6, johtavat E4 34K -proteiinin induoituvaan ilmentymiseen, joka liittyy DNA:n kaksoisäiekatkoksia korjaavien solumeکانismien estämiseen. Solulinja 2V6.11 osoitti, että adenovirusproteiinit E4 34k ja E1b 55k estävät kromosomaalisen DNA:n korjausta häiritsemällä ei-homologista loppuliitosta (NHEJ) ja destabiloimalla DNA:n korjausproteiineja, jolloin niiden vaikutus ulottuu ekstrakromosomaalisesta DNA:sta solun genomiseen DNA:han.

2V6.11-indusoituva solulinja, jonka epiteelin morfologia on tarttuva, sopii erinomaisesti munuaisperäisten epiteelisolujen käyttäytymisen ja ominaisuuksien tutkimiseen, mukaan lukien niiden vaste ihmisen adenovirus 40:n aiheuttamiin infektoihin. Tämä monipuolinen solulinja, joka voidaan havaita western blot -menetelmällä, antaa tutkijoille mahdollisuuden tutkia molekyylimekanismeja, joiden avulla adenovirus E4-onkoproteiini estää korjausprosesseja, ja edistää siten adenoviruspatologian ymmärtämistä ja uusien terapeuttisten strategioiden kehittämismahdollisuuksia.

Organism Ihminen

Tissue Sikiön munuaiset

Ominaisuudet

Age Sikiö

Gender Nainen

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation 2V6.11 (Cytionin luettelonumero 305147)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6355

2V6.11 Kennot | 305147

GMO Status GMO-S1: Tämä HEK293-linja sisältää adenovirus 5 E4-34k -ekspressiokonstruktiota, jota ohjaa ekdysoni-indusoituva promoottori, joka mahdollistaa säännellyn E4-proteiinin tuotannon. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylytiedot

Käsittely

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

2V6.11 Kennot | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

2V6.11 Kennot | 305147

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.