

## 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 indusoituvaa 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-indusoituvaa solulinjaa, 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

**Metastatic site** Ei sovelleta (sikiön munuainen; ei-kasvainta aiheuttava HEK293-johdannainen)

**Applications** Adenoviruksen E4-onkoproteiinin tutkimukset; DNA:n kaksoisjuostekatkosten korjautumista koskeva tutkimus; NHEJ-reitin tutkimukset; indusoituvat E4 34k -ilmentymisjärjestelmät; virologia; adenoviruksen patologia

## Ominaisuudet

**Age** Sikiö

**Gender** Nainen

**Morphology** Epiteelin kaltainen

**Cell type** Epiteelisolut

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

**2V6.11 Kennot | 305147**

<b>Citation</b>	2V6.11 (Cytionin luettelonumero 305147)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_6355
<b>GMO Status</b>	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.

**Biomolekyyli tiedot****Käsittely**

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Split ratio</b>	1-5
<b>Seeding density</b>	1-3 × 10 <sup>4</sup> solua/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2-3 kertaa viikossa
<b>Freeze medium</b>	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 osmoprotektantteja 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-prosenttisella 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 %  $\text{CO}_2$ , 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.