

**2V6.11 Cellák | 305147****Általános információk****Description**

a 2v6.11 sejteket 2001-ben a HEK-293 humán embrionális vese vonalból származtatták. A 2V6.11 sejtvonal értékes forrás az adenovírus E4 onkoprotein, különösen az E4 34K fehérje tanulmányozására, amelyről ismert, hogy részt vesz a sejtek genomjának fenntartásában és javításában. a 2V6.11 sejtek, amelyeket a pVgRxR plazmiddal, majd a pEKORF6 plazmiddal történő transzfeccióval nyertek, az E4 34K fehérje indukálható expresszióját eredményezik, amely a DNS kettős szálszakadásainak javítását végző sejtmechanizmusok gátlásához kapcsolódik. A 2V6.11 sejtvonalon bebizonyosodott, hogy az E4 34k és az E1b 55k adenovírusfehérjék gátolják a kromoszómális DNS-javítást a nem-homológ végcsatlakozás (NHEJ) megzavarásával és a DNS-javító fehérjék destabilizálásával, kiterjesztve hatásukat az extrachromoszómális DNS-ről a sejt genomiális DNS-re.

A 2V6.11 indukálható sejtvonal, tapadó epiteliális morfológiájával ideális a veséből származó epiteliális sejtek viselkedésének és jellemzőinek vizsgálatára, beleértve a humán adenovírus 40 által okozott fertőzésekre adott válaszukat is. Ez a sokoldalú, western blot segítségével kimutatható sejtvonal lehetővé teszi a kutatók számára, hogy elmélyedjenek azokban a molekuláris mechanizmusokban, amelyek révén az adenovírus E4 onkoprotein gátolja a javítási folyamatokat, hozzájárulva ezzel az adenovírus patológiájának megértéséhez és az új terápiás stratégiák kifejlesztésének lehetőségéhez.

**Organism**

Emberi

**Tissue**

Magzati vese

**Metastatic site**

Nem alkalmazható (magzati vese; nem tumorogén HEK293-származék)

**Applications**

Az adenovírus E4 onkoproteinjével kapcsolatos kutatások; a DNS kettős szálú törésének javításával kapcsolatos kutatások; az NHEJ-útvonal vizsgálata; indukálható E4 34k expressziós rendszerek; virológia; adenovírus-patológia

**Jellemzők****Age**

Magzat

**Gender**

Női

**Morphology**

Epithelszerű

**Cell type**

Epithel sejtek

**Growth properties**

Adherent

**Szabályozási adatok**

**2V6.11 Cellák | 305147**

<b>Citation</b>	2V6.11 (Cytion katalógusszám: 305147)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_6355
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Ez a HEK293-ból származó vonal egy ecdysone-indukálható promóter által vezérelt adenovírus 5 E4-34k expressziós konstrukciót tartalmaz, amely lehetővé teszi a szabályozott E4 fehérje termelést. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

**Biomolekuláris adatok****A kezelése**

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
<b>Supplements</b>	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
<b>Split ratio</b>	1-5
<b>Seeding density</b>	1-3 × 10 <sup>4</sup> sejt/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	hetente 2-3 alkalommal
<b>Freeze medium</b>	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**2V6.11 Cellák | 305147****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## 2V6.11 Cellák | 305147

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.