Product sheet

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 transzfekcióval 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

Product sheet

2V6.11 Cellák | 305147

Citation	2V6.11 (Cytion katalógusszám: 305147)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	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

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	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.
Split ratio	1–5
Seeding density	1–3 × 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	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 °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 °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 sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 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 sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

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

Shipping Conditions

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

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 és molekuláris elemzés

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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.