

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**Jellemzők****Age** Magzat**Gender** Női**Morphology** Epithelialis**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** 2V6.11 (Cytion katalógusszám: 305147)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6355

2V6.11 Cellák | 305147

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.

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 krioindukált 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 $300 \times g$ -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 sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított 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.

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.