Product sheet

2V6.11 Ląstelės | 305147

Bendra informacija

Description	2v6.11 ląstelės buvo išvestos iš žmogaus embrioninių inkstų linijos HEK-293 2001 m. 2V6.11 ląstelių linija yra vertingas šaltinis tiriant adenovirusinį E4 onkoproteiną, ypač E4 34K baltymą, kuris, kaip žinoma, dalyvauja ląstelės genomo palaikyme ir taisyme. 2V6.11 ląstelėse, gautose transfekcijos būdu, naudojant plazmidę pVgRxR, po to pEKORF6, indukuojama E4 34K baltymo raiška, kuri yra susijusi su ląstelių mechanizmų, taisančių dvigubos grandinės lūžius DNR, slopinimu. 2V6.11 ląstelių linija parodė, kad adenovirusiniai baltymai E4 34k ir E1b 55k slopina chromosominės DNR taisymą, sutrikdydami nehomologinių galūnių jungimąsi (NHEJ) ir destabilizuodami DNR taisymo baltymus, išplėsdami savo poveikį nuo ekstrachromosominės iki ląstelinės genominės DNR. 2V6.11 indukuojamų ląstelių linija, pasižyminti adherentine epitelio morfologija, idealiai tinka inkstų kilmės epitelio ląstelių elgsenai ir savybėms tirti, įskaitant jų atsaką į žmogaus adenoviruso 40 infekcijas. Ši universali ląstelių linija, kurią galima nustatyti Western blot metodu, leidžia tyrėjams gilintis į molekulinius mechanizmus, kuriais adenoviruso E4 onkoproteinas slopina reparacijos procesus, taip padėdama suprasti adenovirusų patologiją ir galimybes kurti naujas gydymo strategijas.
Organism	Žmogus
Tissue	Vaisiaus inkstai
Metastatic site	Netaikoma (vaisiaus inkstas; navikų nesukelianti HEK293 atmaina)
Applications	Adenoviruso E4 onkoproteino tyrimai; DNR dvigrandžių lūžių taisymo tyrimai; NHEJ kelio tyrimai; indukuojamos E4 34k ekspresijos sistemos; virusologija; adenoviruso patologija

Charakteristikos

Age	Vaisius
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus
Cell type	Epitelio ląstelės
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	2V6.11 (Cytion katalogo numeris 305147)

2V6.11 Ląstelės | 305147

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	GMO-S1: Šioje HEK293 linijoje yra adenoviruso 5 E4-34k ekspresijos konstruktas, valdomas ekdizono indukuojamo promotoriaus, todėl E4 baltymo gamyba reguliuojama. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1–5
Seeding density	nuo 1 iki 3 × 10^4 ląstelių/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

2V6.11 Ląstelės | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

2V6.11 Ląstelės | 305147

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.