

2V6.11 Šūnas | 305147

Vispārīga informācija

Description

2V6.11 šūnas tika iegūtas no cilvēka embrionālās nieru līnijas HEK-293 2001. gadā. 2V6.11 šūnu līnija ir vērtīgs resurss adenovīrusu E4 onkoproteīna, jo īpaši E4 34K proteīna, par kuru zināms, ka tas ir iesaistīts šūnu genoma uzturēšanā un labošanā, izpētei. 2V6.11 šūnās, kas iegūtas, transfekējot ar plazmīdu pVgRxR, kam seko pEKORF6, inducējama E4 34K proteīna ekspresija, kas ir saistīta ar to šūnu mehānismu inhibīciju, kuri novērš DNS dubultās virknes pārrāvumus. 2V6.11 šūnu līnija pierādīja, ka adenovīrusu proteīni E4 34k un E1b 55k inhibē hromosomālo DNS labošanu, izjaucot nehomoloģisko galu savienošānu (NHEJ) un destabilizējot DNS labošanas proteīnus, paplašinot to iedarbību no ārpuschromosomālās uz šūnu genomisko DNS.

2V6.11 inducējamo šūnu līnija ar tās adhēzijas epitēlija morfoloģiju ir ideāli piemērota, lai pētītu no nierēm iegūtu epitēlija šūnu uzvedību un īpašības, tostarp to reakciju uz cilvēka adenovīrusa 40 infekciju. Šī universālā šūnu līnija, ko var noteikt ar Western blot metodi, ļauj pētniekiem iedziļināties molekulārajos mehānismos, ar kuriem adenovīrusa E4 onkoproteīns kavē atjaunošanās procesus, tādējādi veicinot mūsu izpratni par adenovīrusu patoloģiju un jaunu terapeitisko stratēģiju izstrādes iespējas.

Organism

Cilvēks

Tissue

Augļa nieres

Metastatic site

Neattiecas (augļa nieres; netumorigēns HEK293 atvasinājums)

Applications

Adenovīrusa E4 onkoproteīna pētījumi; DNS divkāršās spirāles lūzumu reparācijas pētījumi; NHEJ ceļa pētījumi; induciblas E4 34k ekspresijas sistēmas; viroloģija; adenovīrusa patoloģija

Raksturojums

Age

Auglis

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlijveidīgs

Cell type

Epitēlija šūnas

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

2V6.11 (Cytion kataloga numurs 305147)

2V6.11 Šūnas | 305147

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6355**GMO Status** GMO-S1: Šī no HEK293 atvasinātā līnija satur adenovīrusa 5 E4-34k ekspresijas konstruktus, ko kontrolē ekdizona inducējams promotors, kas nodrošina regulētu E4 proteīna ražošanu. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Split ratio** no 1 līdz 5**Seeding density** 1 līdz 3×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

2V6.11 Šūnas | 305147

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.