Product sheet

2V6.11 Ogniwa | 305147

Informacje ogólne

Description	komórki 2v6.11 zostały uzyskane z ludzkiej embrionalnej linii nerkowej HEK-293 w 2001 roku. Linia komórkowa 2V6.11 jest cennym źródłem do badania onkoproteiny adenowirusowej E4, w szczególności białka E4 34K, o którym wiadomo, że bierze udział w utrzymaniu i naprawie genomu komórkowego. komórki 2V6.11, uzyskane poprzez transfekcję plazmidem pVgRxR, a następnie pEKORF6, powodują indukowaną ekspresję białka E4 34K, co jest związane z hamowaniem mechanizmów komórkowych, które naprawiają podwójne pęknięcia nici DNA. Linia komórkowa 2V6.11 wykazała, że adenowirusowe białka E4 34k i E1b 55k hamują naprawę chromosomalnego DNA poprzez zakłócanie niehomologicznego łączenia końców (NHEJ) i destabilizację białek naprawczych DNA, rozszerzając ich działanie z pozachromosomalnego na komórkowe genomowe DNA. Indukowalna linia komórkowa 2V6.11, o przylegającej morfologii nabłonka, jest idealna do badania zachowania i cech komórek nabłonkowych pochodzących z nerek, w tym ich odpowiedzi na infekcje ludzkim adenowirusem 40. Ta wszechstronna linia komórkowa, którą można wykryć metodą western blot, umożliwia badaczom zagłębienie się w mechanizmy molekularne, za pomocą których onkoproteina E4 adenowirusa hamuje procesy naprawcze, przyczyniając się w ten sposób do zrozumienia patologii adenowirusa i możliwości opracowania nowych strategii terapeutycznych.
Organism	Człowiek
Tissue	Nerka płodu
Metastatic site	Nie dotyczy (nerka płodu; pochodna linii komórkowej HEK293 o właściwościach nie nowotworowych)
Applications	Badania nad onkoproteiną E4 adenowirusa; badania nad naprawą podwójnych pęknięć nici DNA; badania nad szlakiem NHEJ; indukowalne systemy ekspresji białka E4 o masie 34 k; wirusologia; patologia adenowirusa

Charakterystyka

Age	Płód
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka
Cell type	Komórki nabłonkowe
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

2V6.11 Ogniwa | 305147

Citation	2V6.11 (numer katalogowy Cytion 305147)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	GMO-S1: Ta linia pochodząca z HEK293 zawiera konstrukt ekspresji adenowirusa 5 E4-34k kontrolowany przez promotor indukowalny ecdysone, umożliwiający regulowaną produkcję białka E4. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	od 1 do 5
Seeding density	od 1 do 3 × 10^4 komórek/cm^2
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

2V6.11 Ogniwa | 305147

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

2V6.11 Ogniwa | 305147

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 7,11,12 **D13S317**: 12,14 **D16S539**: 9,13 **D5S818**: 8,9 **D7S820**: 11 **TH01**: 7,9.3 **TPOX**: 11 **vWA**: 16,19 **D3S1358**: 15,17 **D21S11**: 28,30.2 **D18S51**: 17,19 **Penta E**: 7,15 **Penta D**: 9,10 **D8S1179**: 12,14 **FGA**: 23 **D6S1043**: 11 **D2S1338**: 19 **D12S391**: 19,21 **D19S433**: 15,18