

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 infekcję 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 NaHCO ₃ , 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. Odrzuć 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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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% CO_2 , 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 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA

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