

**2V6.11 Bunky | 305147****Všeobecné informácie****Description**

bunky 2v6.11 boli odvodené z línie ľudských embryonálnych obličiek HEK-293 v roku 2001. Bunková línia 2V6.11 je cenným zdrojom na štúdium adenovírusového onkoproteínu E4, najmä proteínu E4 34K, o ktorom je známe, že sa podieľa na údržbe a oprave bunkového genómu. bunky 2V6.11 získané transfekciou plazmidom pVgRxR a následnou transfekciou plazmidom pEKORF6 vedú k indukovateľnej expresii proteínu E4 34K, ktorý je spojený s inhibíciou bunkových mechanizmov, ktoré opravujú dvojláknové zlomy v DNA. Bunková línia 2V6.11 preukázala, že adenovírusové proteíny E4 34k a E1b 55k inhibujú opravu chromozomálnej DNA narušením nehomologického spájania koncov (NHEJ) a destabilizáciu opravných proteínov DNA, čím sa ich účinok rozširuje z extrachromozomálnej na bunkovú genomickú DNA.

Indukovateľné bunkové línie 2V6.11 s ich adherentnou epitelovou morfológiou sú ideálne na skúmanie správania a vlastností epitelových buniek odvodených od obličiek vrátane ich reakcie na infekcie ľudským adenovírusom 40. Táto univerzálna bunková línia, ktorú možno detegovať pomocou western blotu, umožňuje výskumníkom preniknúť do molekulárnych mechanizmov, ktorými onkoproteín adenovírusu E4 inhibuje reparačné procesy, čím prispieva k nášmu pochopeniu patológie adenovírusov a potenciálu vývoja nových terapeutických stratégií.

**Organism**

Ľudské

**Tissue**

Fetálne obličky

**Metastatic site**

Neplatí (plodová oblička; netumorigénny derivát buniek HEK293)

**Applications**

Štúdie onkoproteínu E4 adenovírusu; výskum opravy zlomov dvojreťazcovej DNA; štúdie dráhy NHEJ; systémy indukovateľnej expresie E4 34k; virológia; patológia adenovírusu

**Charakteristika****Age**

Plod

**Gender**

Ženy

**Morphology**

Epitelu podobné

**Cell type**

Epitelové bunky

**Growth properties**

Adherent

**Regulačné údaje**

**2V6.11 Bunky | 305147**

<b>Citation</b>	2V6.11 (katalógové číslo Cytion 305147)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_6355
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Táto línia odvodená od HEK293 obsahuje expresný konštrukt adenovírusu 5 E4-34k riadený promótorom indukateľným ekdysónom, ktorý umožňuje regulovanú produkciu proteínu E4. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

**Biomolekulárne údaje****Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	1 až 5
<b>Seeding density</b>	1 až $3 \times 10^4$ buniek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 až 3-krát týždenne
<b>Freeze medium</b>	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## 2V6.11 Bunky | 305147

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.