

**2V6.11 Celice | 305147****Splošne informacije****Description**

celice 2v6.11 so bile leta 2001 pridobljene iz linije človeških embrionalnih ledvic HEK-293. Celična linija 2V6.11 je dragocen vir za preučevanje adenovirusnega onkoproteina E4, zlasti proteina E4 34K, za katerega je znano, da sodeluje pri vzdrževanju in popravljanju celičnega genoma. celice 2V6.11, pridobljene s transfekcijo s plazmidom pVgRxR, ki mu sledi pEKORF6, povzročajo inducirano izražanje beljakovine E4 34K, kar je povezano z zaviranjem celičnih mehanizmov, ki popravljajo dvojne prekinitve verig v DNK. Celična linija 2V6.11 je pokazala, da adenovirusna proteina E4 34k in E1b 55k zavirata popravljanje kromosomske DNK z motenjem nehomolognega končnega spajanja (NHEJ) in destabilizacijo proteinov za popravljanje DNK, s čimer se njun učinek razširi z zunajkromosomske na celično genomsko DNK.

Inducibilne celične linije 2V6.11 so s svojo adherentno epiteljsko morfologijo idealne za raziskovanje obnašanja in značilnosti epiteljskih celic, pridobljenih iz ledvic, vključno z njihovim odzivom na okužbe s človeškim adenovirusom 40. Ta vsestranska celična linija, ki jo je mogoče zaznati z Western blotom, omogoča raziskovalcem, da se poglobijo v molekularne mehanizme, s katerimi adenovirusni onkoprotein E4 zavira procese popravljanja, ter tako prispeva k razumevanju patologije adenovirusov in možnosti razvoja novih terapevtskih strategij.

**Organism** Človek**Tissue** Plodove ledvice**Značilnosti****Age** Plod**Gender** Ženske**Morphology** Epiteljski**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** 2V6.11 (kataloška številka Cytion 305147)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_6355

**2V6.11 Celice | 305147**

**GMO Status** GSO-S1: Ta linija, pridobljena iz HEK293, vsebuje konstrukt za izražanje adenovirusa 5 E4-34k, ki ga nadzoruje promotor, ki ga je mogoče inducirati z ekdizonom, kar omogoča regulirano proizvodnjo beljakovin E4. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

### 2V6.11 Celice | 305147

#### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

#### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

#### Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

#### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## 2V6.11 Celice | 305147

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključuje z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.