Product sheet

2V6.11 Елементи | 305147

Загальна інформація

Description	клітини 2v6.11 були отримані з лінії ембріональних нирок людини HEK-293 у 2001 році. Клітинна лінія 2V6.11 є цінним ресурсом для вивчення аденовірусного онкопротеїну E4, зокрема білка E4 34K, який, як відомо, бере участь у підтримці та репарації клітинного геному. клітини 2V6.11, отримані шляхом трансфекції плазмідою pVgRxR з наступною трансфекцією pEKORF6, призводять до індуцибельної експресії білка E4 34K, що пов'язано з пригніченням клітинних механізмів репарації дволанцюгових розривів в ДНК. Клітинна лінія 2V6.11 продемонструвала, що аденовірусні білки E4 34k і E1b 55k інгібують репарацію хромосомної ДНК, порушуючи приєднання негомологічних кінців (NHEJ) і дестабілізуючи білки репарації ДНК, поширюючи свій вплив з позахромосомної на клітинну геномну ДНК. Індуцибельна клітинна лінія 2V6.11, з її адекватною епітеліальною морфологією, ідеально підходить для дослідження поведінки і характеристик епітеліальних клітин нирок, включаючи їх відповідь на інфікування аденовірусом людини 40. Ця універсальна клітинна лінія, яку можна виявити за допомогою вестерн-блоту, дозволяє дослідникам заглибитися в молекулярні механізми, за допомогою яких онкопротеїн аденовірусу E4 пригнічує процеси репарації, що сприяє нашому розумінню аденовірусної патології та потенціалу для розробки нових терапевтичних стратегій.
Organism	Людина
Tissue	Ембріональна нирка
Metastatic site	Не застосовується (нирка плода; непухлинний похідний штам HEK293)
Applications	Дослідження онкопротеїну E4 аденовірусу; дослідження репарації дволанцюгових розривів ДНК; дослідження шляху NHEJ; системи індукованої експресії E4 34k; вірусологія; патологія аденовірусу

Характеристики

Age	Плід
Gender	Жінка
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

2V6.11 Елементи | 305147

Citation	2V6.11 (номер за каталогом Cytion 305147)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6355
GMO Status	ГМО-S1: Ця лінія, отримана на основі HEK293, містить експресійну конструкцію аденовірусу 5 E4-34k, контрольовану екдизон-індуцибельним промотором, що забезпечує регульоване виробництво білка E4. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 5
Seeding density	від 1 до 3 × 10^4 клітин/$см^2$
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

2V6.11 Елементи | 305147

Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні

2V6.11 Елементи | 305147

Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.