

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 плазмідом 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**Характеристики****Age** Плід**Gender** Жінка**Morphology** Епітеліальний**Growth properties** Адепт**Нормативні дані****Citation** 2V6.11 (каталожний номер 305147)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6355

2V6.11 Елементи | 305147**GMO Status**

ГМО-S1: Ця лінія, отримана на основі НЕК293, 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 mM 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.

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.

2V6.11 Елементи | 305147**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, зануливши 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

2V6.11 Елементи | 305147

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих 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.

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 / Генетичний профіль / HLA

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.