Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Стабилните HEK293-Rpn11-HTBH клетки са стабилно трансфектиран дериват на клетъчната линия HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), модифицирана да експресира маркирана версия на Rpn11 (известен също като PSMD14 или POH1) – деубиквитиназната субединица на капачния комплекс на 26S протеазомата. Rpn11 е Zn^{2+}-зависима деубиквитиназа с JAMM-домейн, която отстранява убиквитинови вериги от субстрати, свързани с протеазомата, по време на протеазомната деградация. HTBH-маркерът (хексахистидин-TEV-биотин-акцепторен пептид-хексахистидин) позволява афинитетно пречистване на комплекси, съдържащи Rpn11, при естествени условия, което прави тази клетъчна линия особено подходяща за пречистване на протеазомни комплекси и изследвания на интерактома.

Тази клетъчна линия намира приложение в изследвания на биологията на 26S протеазомата, регулацията на убиквитин-протеазомния път (UPS), функцията на Rpn11/PSMD14 в контрола на качеството на протеините, сглобяването и динамиката на протеазомата, както и механизма на действие на протеазомните инхибитори. Тя се използва също за афинитетно пречистване на нативни протеазомни комплекси и като модел за изучаване на биологията на деубиквитиназите в контекста на протеазомата.

Системата за маркиране HTBH позволява изключително строго пречистване на биотинилирани комплекси чрез пулдауни на базата на стрептавидин.

Тъкан	Бъбреци
Заболяване	Трансформирани/увековечени фетални бъбреци (на фона на HEK293; трансген Rpn11-HTBH)

Приложения

Биология на 26S протеазомата; функция на Rpn11/PSMD14; убиквитин-протеазомният път; пречистване на протеазомния комплекс; биология на деубиквитиназите; афинитетно пречистване с HTBH-маркер; изследвания на протеазомния интерактома

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

GMO-S1: This HEK293 derivative contains a stably integrated Rpn11-HTBH expression cassette (hexahistidine-TEV-biotin acceptor peptide-hexahistidine tagged Rpn11/PSMD14). This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Ниво на биологична безопасност	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфология	Подобни на епител
Тип клетка	Епителни клетки
Време за удвояване	приблизително 24 до 36 часа

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

Стабилни HEK293 клетки – Rpn11-HTBH (каталожен номер на Cytion 305719)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS

Реагент за дисоциация	Повечето клетки се отделят в PBS; ако е необходимо, добавете Accutase за 5 минути при стайна температура

Пресаждане

Отстранете средата, измийте с PBS без калций и магнезий, покрийте с Accutase, инкубирайте 8–10 минути при стайна температура, ресуспендирайте в средата, центрофугирайте при 300×g в продължение на 3 минути, изхвърлете супернатантата и презасейте в свежа среда.

Коефициент на разделяне	от 1 до 10
Плътност на засяването	от 2 до 4 × 10^4 клетки/$см^2$
Обновяване на течността	На всеки 2 до 3 дни

Размразяване и култивиране

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 200 x g for 5 minutes, carefully discard the supernatant containing freezing medium.
Follow the procedure described under Post-Thaw Recovery

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Необходимо е споразумение за прехвърляне на материали	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB