Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

OBECNÉ INFORMACE

Popis

Stabilní buňky HEK293-Rpn11-HTBH představují stabilně transfekovanou odvozeninu buněčné linie HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), geneticky upravené tak, aby exprimovaly značenou verzi Rpn11 (známého také jako PSMD14 nebo POH1), podjednotky deubiquitinázy komplexu víčka 26S proteasomu. Rpn11 je Zn^{2+}-dependentní deubiquitináza s doménou JAMM, která odstraňuje ubikvitinové řetězce ze substrátů vázaných na proteasom během proteasomální degradace. Značka HTBH (hexahistidin-TEV-biotinový akceptorový peptid-hexahistidin) umožňuje afinitní purifikaci komplexů obsahujících Rpn11 za nativních podmínek, díky čemuž je tato buněčná linie obzvláště vhodná pro purifikaci proteasomových komplexů a studium interakomů.
Tato buněčná linie je použitelná ve studiích biologie 26S proteasomu, regulace ubikvitin-proteasomové dráhy (UPS), funkce Rpn11/PSMD14 při kontrole kvality proteinů, sestavování a dynamiky proteasomu a mechanismu účinku inhibitorů proteasomu. Používá se také k afinitní purifikaci nativních proteasomových komplexů a jako model pro studium biologie deubiquitináz v kontextu proteasomu. Systém značení HTBH umožňuje vysoce selektivní purifikaci biotinylovaných komplexů pomocí pulldownů na bázi streptavidinu.

Tkáň	Ledviny
Nemoc	Transformovaná/imortalizovaná fetální ledvina (na pozadí HEK293; transgen Rpn11-HTBH)

Aplikace

Biologie proteasomu 26S; funkce Rpn11/PSMD14; ubikvitin-proteasomová dráha; purifikace proteasomového komplexu; biologie deubikvitináz; afinitní purifikace pomocí HTBH-tag; studie interaktomu proteasomu

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GMO

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.

Úroveň biologické bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKA

Morfologie	Epitelu podobné
Typ buňky	Epitelové buňky
Doba zdvojnásobení	přibližně 24 až 36 hodin

IDENTIFIKÁTORY

Citace

Stabilní buňky HEK293 – Rpn11-HTBH (katalogové číslo Cytion 305719)

Daňové identifikační číslo NCBI	9606

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS

Disociační činidlo	Většina buněk se v PBS uvolní; v případě potřeby přidejte Accutase a nechte působit 5 minut při pokojové teplotě

Subkultivace

Odstraňte médium, promyjte PBS bez vápníku a hořčíku, zalijte Accutase, inkubujte 8–10 minut při pokojové teplotě, resuspendujte v médiu, odstřeďte při 300×g po dobu 3 minut, supernatant vylijte a znovu naočkujte do čerstvého média.

Poměr rozdělení	1 až 10
Hustota výsevu	2 až 4 × 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	Každé 2 až 3 dny

Rozmrazování a kultivace

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

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

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

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Je nutná smlouva o převodu materiálu	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