Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

Stabile HEK293-celler – Rpn11-HTBH er en stabilt transfekteret afart af HEK293 (Human Embryonic Kidney 293)-cellelinjen, der er konstrueret til at udtrykke en mærket version af Rpn11 (også kendt som PSMD14 eller POH1), deubiquitinase-underenheden i 26S-proteasomets lågkompleks. Rpn11 er et Zn^{2+}-afhængigt deubiquitinase med et JAMM-domæne, der fjerner ubiquitin-kæder fra proteasombundne substrater under proteasomal nedbrydning. HTBH-mærket (hexahistidin-TEV-biotin-acceptorpeptid-hexahistidin) muliggør affinitetsoprensning af Rpn11-holdige komplekser under native betingelser, hvilket gør denne cellelinje særligt velegnet til oprensning af proteasomkomplekser og interaktomstudier.
Denne cellelinje kan anvendes i studier af 26S-proteasombiologi, regulering af ubiquitin-proteasom-vejen (UPS), Rpn11/PSMD14-funktionen i proteinkvalitetskontrol, proteasomsamling og -dynamik samt virkningsmekanismen for proteasominhibitorer. Den anvendes også til affinitetsoprensning af native proteasomkomplekser og som model til undersøgelse af deubiquitinase-biologi i sammenhæng med proteasomet. HTBH-mærkningssystemet muliggør en meget stringent oprensning af biotinylaterede komplekser ved hjælp af streptavidin-baserede pulldowns.

Væv	Nyre
Sygdom	Transformeret/udødeliggjort fosternyre (HEK293-baggrund; Rpn11-HTBH-transgen)

Anvendelser

26S-proteasombiologi; Rpn11/PSMD14-funktion; ubiquitin-proteasom-vejen; oprensning af proteasomkomplekser; deubiquitinase-biologi; affinitetsoprensning med HTBH-tag; undersøgelser af proteasom-interaktomet

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

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.

Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Epitel-lignende
Celletype	Epitheliale celler
Fordoblingstid	ca. 24 til 36 timer

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

Stabile HEK293-celler – Rpn11-HTBH (Cytion-katalognummer 305719)

NCBI-skattenummer	9606

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

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociationsreagens	De fleste celler løsner sig i PBS; tilsæt om nødvendigt Accutase i 5 minutter ved stuetemperatur

Oddyrkning

Fjern mediet, vask med PBS uden calcium og magnesium, tilsæt Accutase, inkuber i 8–10 minutter ved stuetemperatur, resuspender i mediet, centrifuger ved 300×g i 3 minutter, fjern supernatanten, og udså igen i frisk medium.

Opdelingsforhold	1 til 10
Såtæthed	2 til 4 × 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	Hver 2. til 3. dag

Optøning og dyrkning

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

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der kræves en aftale om overførsel af materiale	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