Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Stabilās HEK293 šūnas — Rpn11-HTBH — ir stabili transfekcijas ceļā modificēts HEK293 (cilvēka embrija nieres 293) šūnu līnijas stabili transfekcijas ceļā iegūts atvasinājums, kas inženierijas ceļā radīts, lai ekspresētu marķētu Rpn11 (pazīstams arī kā PSMD14 vai POH1) versiju — 26S proteasomas vāka kompleksa deubikvitināzes apakšvienību. Rpn11 ir Zn^{2+}-atkarīga JAMM-domēna deubikvitināze, kas proteasomālās noārdīšanās laikā no proteasomai piesaistītiem substrātiem noņem ubikvitīna ķēdes. HTBH marķējums (heksahistidīns-TEV-biotīna akceptora peptīds-heksahistidīns) ļauj veikt Rpn11 saturošo kompleksu afinitātes attīrīšanu dabiskos apstākļos, padarot šo šūnu līniju īpaši piemērotu proteasomu kompleksu attīrīšanai un interaktomu pētījumiem.
Šo šūnu līniju var izmantot 26S proteasomas bioloģijas pētījumos, ubikvitīna-proteasomas ceļa (UPS) regulācijas pētījumos, Rpn11/PSMD14 funkcijas pētījumos olbaltumvielu kvalitātes kontrolē, proteasomas montāžas un dinamikas pētījumos, kā arī proteasomas inhibitoru darbības mehānisma izpētē. To izmanto arī dabisko proteasomu kompleksu afinitātes attīrīšanai un kā modeli deubikvitināzes bioloģijas pētīšanai proteasomas kontekstā. HTBH marķēšanas sistēma ļauj veikt ļoti precīzu biotinilēto kompleksu attīrīšanu, izmantojot uz streptavidīnu balstītus pulldown eksperimentus.

Audums	Nieres
Slimība	Transformēta/imortalizēta augļa niere (HEK293 fons; Rpn11-HTBH transgēns)

Pieteikumi

26S proteasomas bioloģija; Rpn11/PSMD14 funkcija; ubikvitīna-proteasomas ceļš; proteasomas kompleksa attīrīšana; deubikvitināzes bioloģija; HTBH-tag afinitātes attīrīšana; proteasomas interaktoma pētījumi

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs
Šūnu tips	Epitēlija šūnas
Laiks, kas nepieciešams, lai skaits dubultojās	aptuveni 24 līdz 36 stundas

IDENTIFIKATORI

Atsauce

Stabilas HEK293 šūnas — Rpn11-HTBH (Cytion kataloga numurs 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

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Lielākā daļa šūnu atdalās PBS vidē; ja nepieciešams, pievienojiet Accutase un ļaujiet iedarboties 5 minūtes istabas temperatūrā

Pārstādīšana

Noņemiet barotni, nomazgājiet ar PBS bez kalcija un magnija, pārklājiet ar Accutase, inkubējiet 8–10 minūtes istabas temperatūrā, atkārtoti suspendējiet barotnē, centrifugējiet 300×g 3 minūtes, izlejiet supernatantu, pārstādiet svaigā barotnē.

Sadalījuma attiecība	no 1 līdz 10
Sēšanas blīvums	2 līdz 4 × 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	Ik pēc 2 līdz 3 dienām

Atkausēšana un kultivēšana

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

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

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

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	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