Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

Stabile HEK293-celler – Rpn11-HTBH er et stabilt transfisert derivat av HEK293 (Human Embryonic Kidney 293)-cellelinjen, utviklet for å uttrykke en merket versjon av Rpn11 (også kjent som PSMD14 eller POH1), deubiquitinase-underenheten i 26S-proteasomets lokkkompleks. Rpn11 er et Zn^{2+}-avhengig deubiquitinase med JAMM-domene som fjerner ubiquitin-kjeder fra proteasombundne substrater under proteasomal nedbrytning. HTBH-merket (heksahistidin-TEV-biotin-akseptorpeptid-heksahistidin) muliggjør affinitetspurifisering av Rpn11-holdige komplekser under naturlige betingelser, noe som gjør denne cellelinjen spesielt egnet for rensing av proteasomkomplekser og interaktomstudier.
Denne cellelinjen kan brukes i studier av 26S-proteasombiologi, regulering av ubiquitin-proteasom-veien (UPS), Rpn11/PSMD14-funksjonen i proteinkvalitetskontroll, proteasom-sammenstilling og -dynamikk, samt virkningsmekanismen til proteasominhibitorer. Den brukes også til affinitetspurifisering av native proteasomkomplekser og som modell for å studere deubiquitinase-biologi i sammenheng med proteasomet. HTBH-merkingssystemet muliggjør svært streng rensing av biotinylert komplekser ved hjelp av streptavidin-baserte pulldowns.

Vev	Nyre
Sykdom	Transformert/immortaliserte fosternyrer (HEK293-bakgrunn; Rpn11-HTBH-transgen)

Søknader

26S-proteasombiologi; Rpn11/PSMD14-funksjon; ubikvitin-proteasom-veien; rensing av proteasomkomplekser; deubikvitinase-biologi; affinitetsrensing med HTBH-tag; studier av proteasom-interaktomet

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Vekstegenskaper	Tilhenger
GMO-status	GMO-S1

Detaljer 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.

Biosikkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

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

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

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

NCBI-skattenummer	9606

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

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

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissosiasjonsmiddel	De fleste celler løsner i PBS; tilsett om nødvendig Accutase i 5 minutter ved romtemperatur

Subkultivering

Fjern mediet, vask med PBS uten kalsium og magnesium, tilsett Accutase, inkuber i 8–10 minutter ved romtemperatur, resuspender i mediet, sentrifuger ved 300×g i 3 minutter, kast supernatanten, og så på nytt i ferskt medium.

Oppdelingsforhold	1 til 10
Såtetthet	2 til 4 × 10^4 celler/cm^2
Væskefornyelse	Hver 2. til 3. dag

Tining og dyrking

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

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter opptining.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	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