Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

Stabiele HEK293-cellen-Rpn11-HTBH is een stabiel getransfecteerde afgeleide van de HEK293 (Human Embryonic Kidney 293)-cellijn, die is gemanipuleerd om een gelabelde versie van Rpn11 (ook bekend als PSMD14 of POH1) tot expressie te brengen, de deubiquitinase-subeenheid van het 26S-proteasoom-dekselcomplex. Rpn11 is een Zn^{2+}-afhankelijk deubiquitinase met een JAMM-domein dat ubiquitineketens verwijdert van aan het proteasoom gebonden substraten tijdens proteasoomafbraak. De HTBH-tag (hexahistidine-TEV-biotine-acceptorpeptide-hexahistidine) maakt affiniteitszuivering van Rpn11-bevattende complexen onder natuurlijke omstandigheden mogelijk, waardoor deze lijn bijzonder geschikt is voor de zuivering van proteasoomcomplexen en interactoomonderzoek.
Deze cellijn is toepasbaar in onderzoek naar de biologie van het 26S-proteasoom, de regulatie van de ubiquitine-proteasoomroute (UPS), de functie van Rpn11/PSMD14 bij de kwaliteitscontrole van eiwitten, de assemblage en dynamica van het proteasoom, en het werkingsmechanisme van proteasoomremmers. De lijn wordt ook gebruikt voor affiniteitszuivering van natieve proteasoomcomplexen en als model voor het bestuderen van de biologie van deubiquitinases in de context van het proteasoom. Het HTBH-tagging-systeem maakt een zeer stringente zuivering van biotine-gelabelde complexen mogelijk met behulp van op streptavidine gebaseerde pulldowns.

Weefsel	Nieren
Ziekte	Getransformeerde/vereeuwigde foetale nier (HEK293-achtergrond; Rpn11-HTBH-transgen)

Toepassingen

Biologie van het 26S-proteasoom; functie van Rpn11/PSMD14; ubiquitine-proteasoomroute; zuivering van proteasoomcomplexen; biologie van deubiquitinases; affiniteitszuivering met HTBH-tag; onderzoek naar het proteasoom-interactoom

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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.

Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Epitheelachtig
Celtype	Epitheelcellen
Verdubbelingstijd	ongeveer 24 tot 36 uur

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

Stabiele HEK293-cellen – Rpn11-HTBH (Cytion-catalogusnummer 305719)

NCBI-belastingnummer	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

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociatiereagens	De meeste cellen komen los in PBS; voeg indien nodig Accutase toe en laat 5 minuten bij kamertemperatuur staan

Heruitplanten

Verwijder het medium, was de cellen met PBS zonder calcium en magnesium, bedek ze met Accutase, incubeer 8–10 min bij kamertemperatuur, resuspendeer in medium, centrifugeer 300×g gedurende 3 min, gooi het supernatant weg en zaai de cellen opnieuw uit in vers medium.

Splitsingsverhouding	1 tot 10
Zaaidichtheid	2 tot 4 × 10^4 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	Om de 2 tot 3 dagen

Ontdooien en kweken

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

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes