Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Stabilne komórki HEK293-Rpn11-HTBH to stabilnie transfekowana odmiana linii komórkowej HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), zmodyfikowana genetycznie w celu ekspresji znakowanej wersji białka Rpn11 (znanego również jako PSMD14 lub POH1), podjednostki deubikwitynazy kompleksu pokrywy proteasomu 26S. Rpn11 jest zależną od Zn^{2+} deubikwitynazą z domeną JAMM, która usuwa łańcuchy ubikwityny z substratów związanych z proteasomem podczas degradacji proteasomalnej. Znacznik HTBH (heksahistydyna-TEV-peptyd akceptorowy biotyny-heksahistydyna) umożliwia oczyszczanie powinowactwowe kompleksów zawierających Rpn11 w warunkach natywnych, dzięki czemu linia ta nadaje się szczególnie do oczyszczania kompleksów proteasomowych oraz badań interakomicznych.
Linia komórkowa ta znajduje zastosowanie w badaniach nad biologią proteasomu 26S, regulacją szlaku ubikwityna-proteasom (UPS), funkcją Rpn11/PSMD14 w kontroli jakości białek, montażem i dynamiką proteasomu oraz mechanizmem działania inhibitorów proteasomu. Wykorzystuje się ją również do oczyszczania powinowactwowego natywnych kompleksów proteasomowych oraz jako model do badań nad biologią deubikwitynaz w kontekście proteasomu. System znakowania HTBH umożliwia bardzo rygorystyczne oczyszczanie kompleksów biotynylowanych przy użyciu metod pulldown opartych na streptawidynie.

Chusteczka	Nerka
Choroba	Zmodyfikowana/unieśmiertelniona nerka płodu (linia komórkowa HEK293; transgen Rpn11-HTBH)

Zastosowania

Biologia proteasomu 26S; funkcja białka Rpn11/PSMD14; szlak ubikwityna-proteasom; oczyszczanie kompleksów proteasomowych; biologia deubikwitynaz; oczyszczanie powinowactwowe z wykorzystaniem znacznika HTBH; badania interakomów proteasomu

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące 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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Podobny do nabłonka
Typ komórki	Komórki nabłonkowe
Czas podwojenia	ok. 24–36 godzin

IDENTYFIKATORY

Źródło

Stabilne komórki HEK293 – Rpn11-HTBH (numer katalogowy Cytion 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

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Większość komórek odrywa się w roztworze PBS; w razie potrzeby dodać Accutase na 5 minut w temperaturze pokojowej

Hodowla komórek w subkulturze

Usunąć pożywkę, przemyć komórki roztworem PBS bez wapnia i magnezu, zalać preparatem Accutase, inkubować przez 8–10 minut w temperaturze pokojowej, zawiesić komórki w pożywce, odwirować przy 300×g przez 3 minuty, odrzucić supernatant, ponownie zasiać komórki w świeżej pożywce.

Współczynnik podziału	od 1 do 10
Gęstość wysiewu	od 2 do 4 × 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	Co 2 do 3 dni

Rozmrażanie i hodowla

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 JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	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