Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

Stabila HEK293-celler – Rpn11-HTBH är en stabilt transfekterad variant av cellinjen HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), som har modifierats för att uttrycka en märkt version av Rpn11 (även känt som PSMD14 eller POH1), deubiquitinas-subenheten i 26S-proteasomets lockkomplex. Rpn11 är ett Zn^{2+}-beroende deubiquitinase med JAMM-domän som avlägsnar ubiquitin-kedjor från proteasombundna substrat under proteasomal nedbrytning. HTBH-taggen (hexahistidin-TEV-biotinacceptorpeptid-hexahistidin) möjliggör affinitetsrening av Rpn11-innehållande komplex under naturliga förhållanden, vilket gör denna cellinje särskilt lämplig för rening av proteasomkomplex och interaktomstudier.
Denna cellinje är användbar i studier av 26S-proteasombiologi, reglering av ubiquitin-proteasomvägen (UPS), Rpn11/PSMD14-funktionen vid proteinkvalitetskontroll, proteasomets sammansättning och dynamik samt verkningsmekanismen hos proteasomhämmare. Den används även för affinitetsrening av nativa proteasomkomplex och som modell för att studera deubiquitinase-biologi i samband med proteasomet. HTBH-märkningssystemet möjliggör mycket noggrann rening av biotinylerade komplex med hjälp av streptavidinbaserade pulldowns.

Vävnad	Njurar
Sjukdom	Transformerad/odödliggjord fosternjure (HEK293-bakgrund; Rpn11-HTBH-transgen)

Ansökningar

26S-proteasombiologi; Rpn11/PSMD14-funktion; ubiquitin-proteasomvägen; rening av proteasomkomplex; deubiquitinase-biologi; affinitetsrening med HTBH-tag; studier av proteasominteraktom

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Tillväxtegenskaper	Följsam
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.

Biosäkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Epitelliknande
Celltyp	Epiteliala celler
Fördubblingstid	ca 24 till 36 timmar

IDENTIFIERARE

Källa

Stabila 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

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

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

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociationsmedel	De flesta celler lossnar i PBS; tillsätt vid behov Accutase i 5 minuter vid rumstemperatur

Vidareodling

Avlägsna odlingsmediet, tvätta med PBS utan kalcium och magnesium, täck med Accutase, inkubera i 8–10 minuter vid rumstemperatur, resuspendera i odlingsmediet, centrifugera vid 300×g i 3 minuter, kasta supernatanten och återutsäda i nytt odlingsmedium.

Uppdelningsförhållande	1 till 10
Såtäthet	2 till 4 × 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	Var 2:a till 3:e dag

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Frysmedel	Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal om materialöverföring krävs	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