Product sheet

Κύτταρα HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα σταθερά κύτταρα HEK293-Rpn11-HTBH αποτελούν ένα σταθερά μεταμοσχευμένο παράγωγο της κυτταρικής σειράς HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), που έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει μια επισημασμένη έκδοση του Rpn11 (γνωστού επίσης ως PSMD14 ή POH1), της υπομονάδας της δεουβικουτινάσης του συμπλέγματος καπακιού του πρωτεασώματος 26S. Το Rpn11 είναι μια εξαρτώμενη από Zn^{2+} δεουβικουτινάση με τομέα JAMM, η οποία απομακρύνει τις αλυσίδες ουβικιτίνης από υποστρώματα που έχουν συνδεθεί με το πρωτεάσωμα κατά τη διάρκεια της πρωτεασωματικής αποικοδόμησης. Η ετικέτα HTBH (εξαϊστιδίνη-TEV-πεπτίδιο δέκτη βιοτίνης-εξαϊστιδίνη) επιτρέπει τον καθαρισμό με βάση τη συγγένεια συμπλοκών που περιέχουν Rpn11 υπό φυσιολογικές συνθήκες, καθιστώντας αυτή τη σειρά κυττάρων ιδιαίτερα κατάλληλη για τον καθαρισμό συμπλοκών πρωτεασώματος και για μελέτες αλληλεπιδράσεων. Αυτή η κυτταρική σειρά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μελέτες της βιολογίας του πρωτεασώματος 26S, της ρύθμισης της οδού ουβικιτίνης-πρωτεασώματος (UPS), της λειτουργίας των Rpn11/PSMD14 στον έλεγχο ποιότητας των πρωτεϊνών, της συναρμολόγησης και της δυναμικής του πρωτεασώματος, καθώς και του μηχανισμού δράσης των αναστολέων του πρωτεασώματος. Χρησιμοποιείται επίσης για τον καθαρισμό με συγγένεια φυσικών συμπλοκών πρωτεασώματος και ως μοντέλο για τη μελέτη της βιολογίας των δεουβικουτινασών στο πλαίσιο του πρωτεασώματος. Το σύστημα σήμανσης HTBH επιτρέπει τον εξαιρετικά αυστηρό καθαρισμό βιοτινυλιωμένων συμπλοκών με τη χρήση μεθόδων απομόνωσης με βάση τη στρεπταβιδίνη.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Disease	Μετασχηματισμένος/αθανατοποιημένος εμβρυϊκός νεφρός (υπόβαθρο HEK293· τρανσγονίδιο Rpn11-HTBH)
Applications	Βιολογία του πρωτεασώματος 26S· λειτουργία του Rpn11/PSMD14· οδός ουβικιτίνης-πρωτεασώματος· καθαρισμός συμπλόκου πρωτεασώματος· βιολογία των δεουβικιτινασών· καθαρισμός με βάση τη συγγένεια της ετικέτας HTBH· μελέτες του δικτύου αλληλεπιδράσεων του πρωτεασώματος

Χαρακτηριστικά

Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Σταθερά κύτταρα HEK293-Rpn11-HTBH (αριθμός καταλόγου Cytion 305719)

Κύτταρα HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S1: Αυτό το παράγωγο του HEK293 περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα έκφρασης Rpn11-HTBH (Rpn11/PSMD14 με ετικέτα εξαϊστιδίνης-TEV-πεπτίδιο δέκτη βιοτίνης-εξαϊστιδίνης). Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Τα περισσότερα κύτταρα αποκολλώνται σε PBS· αν χρειαστεί, προσθέστε Accutase για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
Doubling time	περίπου 24 έως 36 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το μέσο, πλύνετε με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο, προσθέστε Accutase, επωάστε για 8–10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, αναδιαλύστε στο μέσο, φυγοκεντρήστε στα 300×g για 3 λεπτά, απορρίψτε τον υπερκείμενο, μεταφυτέψτε σε φρέσκο μέσο.
Split ratio	1 έως 10
Seeding density	2 έως 4 × 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	Κάθε 2 έως 3 ημέρες
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Κύτταρα HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.

7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση