Product sheet

HEK293-Rpn11-HTBH Hücreleri | 305719

Genel bilgi

Description	Kararlı HEK293 Hücreleri-Rpn11-HTBH, HEK293 (İnsan Embriyonik Böbrek 293) hücre hattının kararlı bir şekilde transfekte edilmiş bir türevidir ve 26S proteazom kapağı kompleksinin deubiquitinaz alt birimi olan Rpn11'in (PSMD14 veya POH1 olarak da bilinir) etiketli bir versiyonunu eksprese etmek üzere tasarlanmıştır. Rpn11, proteazomal yıkım sırasında proteazoma bağlı substratlardan ubikuitin zincirlerini uzaklaştıran, Zn^{2+}'ya bağımlı bir JAMM-alanlı deubikuitinazdır. HTBH etiketi (heksahistidin-TEV-biotin alıcı peptid-heksahistidin), doğal koşullar altında Rpn11 içeren komplekslerin afinite saflaştırılmasını mümkün kılar; bu da bu hücre hattını proteazom kompleksi saflaştırma ve etkileşim ağı çalışmaları için özellikle uygun hale getirir. Bu hücre hattı, 26S proteazom biyolojisi, ubikuitin-proteazom yolu (UPS) regülasyonu, protein kalite kontrolünde Rpn11/PSMD14 işlevi, proteazom montajı ve dinamiği ile proteazom inhibitörlerinin etki mekanizması üzerine yapılan çalışmalarda kullanılabilir. Ayrıca, doğal proteazom komplekslerinin afinite saflaştırmasında ve proteazom bağlamında deubikuitinaz biyolojisini incelemek için bir model olarak da kullanılır. HTBH etiketleme sistemi, streptavidin bazlı pulldown yöntemleri kullanılarak biyotinile edilmiş komplekslerin son derece titiz bir şekilde saflaştırılmasını sağlar.
Organism	İnsan
Tissue	Böbrek
Disease	Dönüştürülmüş/ölümsüzleştirilmiş fetal böbrek (HEK293 arka planı; Rpn11-HTBH transgeni)
Applications	26S proteazom biyolojisi; Rpn11/PSMD14 işlevi; ubikuitin-proteazom yolu; proteazom kompleksinin saflaştırılması; deubikuitinaz biyolojisi; HTBH-etiketli afinite saflaştırması; proteazom etkileşim ağı çalışmaları

Özellikler

Morphology	Epitel benzeri
Cell type	Epitel hücreleri
Growth properties	Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation	Kararlı HEK293 Hücreleri-Rpn11-HTBH (Cytion katalog numarası 305719)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

HEK293-Rpn11-HTBH Hücreleri | 305719

GMO Status	GMO-S1: Bu HEK293 türevi, kararlı bir şekilde entegre edilmiş bir Rpn11-HTBH ekspresyon kaseti (heksahistidin-TEV-biotin alıcı peptid-heksahistidin etiketli Rpn11/PSMD14) içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya sınırları içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Elleçleme

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Çoğu hücre PBS içinde ayrılır; gerekirse Accutase ekleyin ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletin
Doubling time	yaklaşık 24 ila 36 saat
Subculturing	Besiyerini çıkarın, kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın, Accutase ile kaplayın, oda sıcaklığında 8–10 dakika inkübe edin, besiyerinde yeniden süspansiyon haline getirin, 300×g'de 3 dakika santrifüjleyin, süpernatantı atın, taze besiyerine yeniden ekleyin.
Split ratio	1'den 10'a kadar
Seeding density	2 ila 4 × 10^4 hücre/cm^2
Fluid renewal	Her 2 ila 3 günde bir
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

HEK293-Rpn11-HTBH Hücreleri | 305719

Thawing and Culturing Cells	1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin. 2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin. 3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir ajan içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün. 4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin. 5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın. 6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın. 7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin
Incubation Atmosphere	37°C, %5 $_{CO2}$, nemlendirilmiş atmosfer.
Shipping Conditions	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.
Storage Conditions	Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz