

Клетки HEK293-Rpn11-НТВН | 305719

Обща информация

Description

Стабилните HEK293-Rpn11-НТВН клетки са стабилно трансфектиран дериват на клетъчната линия HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), модифицирана да експресира маркирана версия на Rpn11 (известен също като PSMD14 или POH1) – деубиквитиnazната субединица на капачния комплекс на 26S протеазомата. Rpn11 е Zn^{2+} -зависима деубиквитиnazа с JAMM-домейн, която отстранява убиквитинови вериги от субстрати, свързани с протеазомата, по време на протеазомната деградация. НТВН-маркерът (хексахистидин-TEV-биотин-акцепторен пептид-хексахистидин) позволява афинитетно пречистване на комплекси, съдържащи Rpn11, при естествени условия, което прави тази клетъчна линия особено подходяща за пречистване на протеазомни комплекси и изследвания на интерактома.

Тази клетъчна линия намира приложение в изследвания на биологията на 26S протеазомата, регулацията на убиквитин-протеазомния път (UPS), функцията на Rpn11/PSMD14 в контрола на качеството на протеините, сглобяването и динамиката на протеазомата, както и механизма на действие на протеазомните инхибитори. Тя се използва също за афинитетно пречистване на нативни протеазомни комплекси и като модел за изучаване на биологията на деубиквитиnazите в контекста на протеазомата. Системата за маркиране НТВН позволява изключително строго пречистване на биотинилирани комплекси чрез пулдауни на базата на стрептавидин.

Organism

Човек

Tissue

Бъбреци

Disease

Трансформирани/увековечени фетални бъбреци (на фона на HEK293; трансген Rpn11-НТВН)

Applications

Биология на 26S протеазомата; функция на Rpn11/PSMD14; убиквитин-протеазомният път; пречистване на протеазомния комплекс; биология на деубиквитиnazите; афинитетно пречистване с НТВН-маркер; изследвания на протеазомния интерактома

Характеристики

Morphology

Подобни на епител

Cell type

Епителни клетки

Growth properties

Придържащи се

Регулаторни данни

Citation

Стабилни HEK293 клетки – Rpn11-НТВН (каталожен номер на Cytion 305719)

Biosafety level

1

Клетки HEK293-Rpn11-НТВН | 305719

NCBI_TaxID 9606**GMO Status** GMO-S1: Това производно на HEK293 съдържа стабилно интегрирана касета за експресия на Rpn11-НТВН (Rpn11/PSMD14, маркиран с хексахистидин-TEV-биотин-акцепторен пептид-хексахистидин). Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други държави.

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Повечето клетки се отделят в PBS; ако е необходимо, добавете Accutase за 5 минути при стайна температура**Doubling time** приблизително 24 до 36 часа**Subculturing** Отстранете средата, измийте с PBS без калций и магнезий, покрийте с Accutase, инкубирайте 8–10 минути при стайна температура, ресуспендирайте в средата, центрофугирайте при 300×g в продължение на 3 минути, изхвърлете супернатантата и презасейте в свежа среда.**Split ratio** от 1 до 10**Seeding density** от 2 до 4×10^4 клетки/см²**Fluid renewal** На всеки 2 до 3 дни**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Клетки HEK293-Rpn11-НТВН | 305719

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $200 \times g$ в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ