

**HEK293-Rpn11-HTBH-celler | 305719****Generel information****Description**

Stabile HEK293-celler – Rpn11-HTBH er en stabilt transfekteret afart af HEK293 (Human Embryonic Kidney 293)-cellelinjen, der er konstrueret til at udtrykke en mærket version af Rpn11 (også kendt som PSMD14 eller POH1), deubiquitinase-underenheden i 26S-proteasomets lågkompleks. Rpn11 er et  $Zn^{2+}$ -afhængigt deubiquitinase med et JAMM-domæne, der fjerner ubiquitin-kæder fra proteasombundne substrater under proteasomal nedbrydning. HTBH-mærket (hexahistidin-TEV-biotin-acceptorpeptid-hexahistidin) muliggør affinitetsoprensning af Rpn11-holdige komplekser under native betingelser, hvilket gør denne cellelinje særligt velegnet til oprensning af proteasomkomplekser og interaktomstudier.

Denne cellelinje kan anvendes i studier af 26S-proteasombiologi, regulering af ubiquitin-proteasom-vejen (UPS), Rpn11/PSMD14-funktionen i proteinkvalitetskontrol, proteasomsamling og -dynamik samt virkningsmekanismen for proteasominhibitorer. Den anvendes også til affinitetsoprensning af native proteasomkomplekser og som model til undersøgelse af deubiquitinase-biologi i sammenhæng med proteasomet. HTBH-mærkningssystemet muliggør en meget stringent oprensning af biotinylerede komplekser ved hjælp af streptavidin-baserede pulldowns.

**Organism**

Menneske

**Tissue**

Nyre

**Disease**

Transformeret/udødeliggjort fosternyre (HEK293-baggrund; Rpn11-HTBH-transgen)

**Applications**

26S-proteasombiologi; Rpn11/PSMD14-funktion; ubiquitin-proteasom-vejen; oprensning af proteasomkomplekser; deubiquitinase-biologi; affinitetsoprensning med HTBH-tag; undersøgelser af proteasom-interaktomet

**Karakteristika****Morphology**

Epitel-lignende

**Cell type**

Epitheliale celler

**Growth properties**

Vedhæftende

**Regulatoriske data****Citation**

Stabile HEK293-celler – Rpn11-HTBH (Cytion-katalognummer 305719)

**Biosafety level**

1

**HEK293-Rpn11-HTBH-celler | 305719****NCBI\_TaxID** 9606

**GMO Status** GMO-S1: Dette HEK293-derivat indeholder en stabilt integreret Rpn11-HTBH-ekspressionskassette (Rpn11/PSMD14 mærket med hexahistidin-TEV-biotin-acceptorpeptid-hexahistidin). Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

**Biomolekylære data****Håndtering**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS

**Dissociation Reagent** De fleste celler løsner sig i PBS; tilsæt om nødvendigt Accutase i 5 minutter ved stuetemperatur

**Doubling time** ca. 24 til 36 timer

**Subculturing** Fjern mediet, vask med PBS uden calcium og magnesium, tilsæt Accutase, inkuber i 8–10 minutter ved stuetemperatur, resuspender i mediet, centrifuger ved 300×g i 3 minutter, fjern supernatanten, og udså igen i frisk medium.

**Split ratio** 1 til 10

**Seeding density** 2 til  $4 \times 10^4$  cell<sup>er</sup>/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Hver 2. til 3. dag

**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

**HEK293-Rpn11-HTBH-celler | 305719****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, befugtet atmosfære.

**Shipping  
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage  
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

**Kvalitetskontrol og molekylær analyse**