Product sheet

HEK293-Rpn11-HTBH-Zellen | 305719

Allgemeine Informationen

Description	Stabile HEK293-Zellen – Rpn11-HTBH sind ein stabil transfiziertes Derivat der HEK293 (Human Embryonic Kidney 293)-Zelllinie, die so modifiziert wurde, dass sie eine markierte Version von Rpn11 (auch bekannt als PSMD14 oder POH1) exprimiert, der Deubiquitinase-Untereinheit des 26S-Proteasom-Lid-Komplexes. Rpn11 ist eine Zn^{2+}-abhängige Deubiquitinase mit JAMM-Domäne, die während des proteasomalen Abbaus Ubiquitin-Ketten von proteasomgebundenen Substraten entfernt. Das HTBH-Tag (Hexahistidin-TEV-Biotin-Akzeptorpeptid-Hexahistidin) ermöglicht die Affinitätsaufreinigung von Rpn11-haltigen Komplexen unter nativen Bedingungen, wodurch sich diese Zelllinie besonders gut für die Aufreinigung von Proteasomkomplexen und Interaktomstudien eignet. Diese Zelllinie eignet sich für Untersuchungen zur Biologie des 26S-Proteasoms, zur Regulation des Ubiquitin-Proteasom-Wegs (UPS), zur Funktion von Rpn11/PSMD14 bei der Proteinqualitätskontrolle, zum Aufbau und zur Dynamik des Proteasoms sowie zum Wirkmechanismus von Proteasom-Inhibitoren. Sie wird zudem zur Affinitätsaufreinigung nativer Proteasomkomplexe sowie als Modell zur Untersuchung der Deubiquitinase-Biologie im Zusammenhang mit dem Proteasom verwendet. Das HTBH-Tagging-System ermöglicht eine hochselektive Aufreinigung biotinylierter Komplexe mittels Streptavidin-basierter Pulldowns.
Organism	Menschen
Tissue	Niere
Disease	Transformierte/immortalisierte fötale Niere (HEK293-Hintergrund; Rpn11-HTBH-Transgen)
Applications	Biologie des 26S-Proteasoms; Funktion von Rpn11/PSMD14; Ubiquitin-Proteasom-Weg; Aufreinigung des Proteasomkomplexes; Biologie der Deubiquitinase; Affinitätsaufreinigung mittels HTBH-Tag; Untersuchungen zum Proteasom-Interaktom

Merkmale

Morphology	Epithelähnlich
Cell type	Epithelzellen
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	Stabile HEK293-Zellen – Rpn11-HTBH (Cytion-Katalognummer 305719)
Biosafety level	1

HEK293-Rpn11-HTBH-Zellen | 305719

NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S1: Dieses HEK293-Derivat enthält eine stabil integrierte Rpn11-HTBH-Expressionskassette (mit Rpn11/PSMD14, markiert mit Hexahistidin-TEV-Biotin-Akzeptorpeptid-Hexahistidin). Diese Einstufung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Die meisten Zellen lösen sich in PBS ab; falls erforderlich, Accutase hinzufügen und 5 Minuten bei Raumtemperatur einwirken lassen.
Doubling time	ca. 24 bis 36 Stunden
Subculturing	Medium entfernen, mit PBS ohne Kalzium und Magnesium waschen, mit Accutase bedecken, 8–10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, in Medium resuspendieren, 3 Minuten bei 300×g zentrifugieren, Überstand verwerfen, in frisches Medium ausplattieren.
Split ratio	1 bis 10
Seeding density	2 bis 4 × 10^4 Zellen/cm^2
Fluid renewal	Alle 2 bis 3 Tage
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir vollständiges Wachstumsmedium + 10 % DMSO, um eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten.

HEK293-Rpn11-HTBH-Zellen | 305719

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Die Mischung 5 Minuten lang bei 200 x g zentrifugieren und den Überstand mit dem Gefriermedium vorsichtig verwerfen. 7. Befolgen Sie das unter Wiederherstellung nach dem Auftauen beschriebene Verfahren
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse