

**Cellules HEK293-Rpn11-HTBH | 305719****Informations générales****Description**

Les cellules HEK293 stables-Rpn11-HTBH sont un dérivé transfecté de manière stable de la lignée cellulaire HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), conçue pour exprimer une version marquée de Rpn11 (également connue sous le nom de PSMD14 ou POH1), la sous-unité déubiquitine du complexe « lid » du protéasome 26S. Rpn11 est une déubiquitine à domaine JAMM dépendante du  $Zn^{2+}$  qui élimine les chaînes d'ubiquitine des substrats liés au protéasome au cours de la dégradation protéasomale. Le marqueur HTBH (hexahistidine-TEV-peptide accepteur de biotine-hexahistidine) permet la purification par affinité des complexes contenant Rpn11 dans des conditions natives, ce qui rend cette lignée particulièrement adaptée à la purification des complexes protéasomiques et aux études d'interactome.

Cette lignée cellulaire est utile pour les études sur la biologie du protéasome 26S, la régulation de la voie ubiquitine-protéasome (UPS), la fonction de Rpn11/PSMD14 dans le contrôle de la qualité des protéines, l'assemblage et la dynamique du protéasome, ainsi que le mécanisme d'action des inhibiteurs du protéasome. Elle est également utilisée pour la purification par affinité de complexes protéasomiques natifs et comme modèle pour l'étude de la biologie des déubiquitines dans le contexte du protéasome. Le système de marquage HTBH permet une purification très rigoureuse des complexes biotinylés à l'aide de pulldowns à base de streptavidine.

Les cellules HEK293 stables Rpn11-HTBH sont cultivées en culture adhérente dans du DMEM complété par 10 % de FBS et l'antibiotique de sélection approprié afin de maintenir l'expression du transgène à 37 °C dans une atmosphère humidifiée à 5 % de  $CO_2$ . Les cellules sont repiquées avec de l'Accutase lorsqu'elles atteignent une confluence de 80 à 90 % (rapport de division de 1:5 à 1:10). Le milieu est renouvelé tous les 2 à 3 jours.

**Organism**

Humain

**Tissue**

Rein

**Disease**

Rein foetal transformé/immortalisé (lignée HEK293 ; transgène Rpn11-HTBH)

**Applications**

Biologie du protéasome 26S ; fonction de Rpn11/PSMD14 ; voie ubiquitine-protéasome ; purification du complexe protéasomique ; biologie des déubiquitines ; purification par affinité avec le marqueur HTBH ; études sur l'interactome du protéasome

**Caractéristiques****Morphology**

De type épithélial

**Cell type**

Cellules épithéliales

**Growth properties**

Adhérent

**Données réglementaires**

**Cellules HEK293-Rpn11-HTBH | 305719****Citation** Cellules HEK293 stables - Rpn11-HTBH (référence Cytion 305719)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**GMO Status** GMO-S1 : Ce dérivé de la lignée HEK293 contient une cassette d'expression Rpn11-HTBH intégrée de manière stable (Rpn11/PSMD14 marqué par une séquence hexahistidine-TEV-peptide accepteur de biotine-hexahistidine). Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.**Données biomoléculaires****Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** La plupart des cellules se détachent dans du PBS ; si nécessaire, ajouter de l'Accutase pendant 5 minutes à température ambiante.**Doubling time** environ 24 à 36 heures**Subculturing** Retirer le milieu, laver avec du PBS sans calcium ni magnésium, recouvrir d'Accutase, incuber 8 à 10 minutes à température ambiante, remettre en suspension dans le milieu, centrifuger à 300 × g pendant 3 minutes, jeter le surnageant, ensemercer à nouveau dans du milieu frais.**Split ratio** 1 à 10**Seeding density** 2 à 4 × 10<sup>4</sup> cellules/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Tous les 2 ou 3 jours**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.

## Cellules HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite sous Récupération après décongélation

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA