

## HEK293-Rpn11-HTBH sejtek | 305719

## Általános információk

## Description

A stabil HEK293-sejtek – Rpn11-HTBH a HEK293 (Human Embryonic Kidney 293) sejtvonal stabilan transzfektált származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy a 26S proteaszóm fedélkomplexének deubiquitináz alegységét, az Rpn11-et (más néven PSMD14 vagy POH1) jelölt változatban fejezze ki. Az Rpn11 egy  $Zn^{2+}$ -függő, JAMM-doménnel rendelkező deubiquitináz, amely a proteaszómális lebontás során eltávolítja az ubiquitin-láncokat a proteaszómhoz kötődött szubsztrátokról. A HTBH-címke (hexahisztidin-TEV-biotin-akceptor-peptid-hexahisztidin) lehetővé teszi az Rpn11-t tartalmazó komplexek affinitásos tisztítását natív körülmények között, így ez a sejtvonal különösen alkalmas proteaszómakomplexek tisztítására és interaktom-vizsgálatokra.

Ez a sejtvonal alkalmazható a 26S proteaszóm biológiájának, az ubiquitin-proteaszóm útvonal (UPS) szabályozásának, az Rpn11/PSMD14 fehérje minőség-ellenőrzésben betöltött szerepének, a proteaszóm összeállításának és dinamikájának, valamint a proteaszóm-gátlók hatásmechanizmusának vizsgálatában. Emellett natív proteaszóm-komplexek affinitásos tisztítására is használják, valamint modellként a deubikvitinázok biológiájának a proteaszóm kontextusában történő vizsgálatához. A HTBH-jelölőrendszer lehetővé teszi a biotinizált komplexek rendkívül szigorú tisztítását streptavidin-alapú pulldown-eljárások alkalmazásával.

A stabil HEK293-Rpn11-HTBH sejteket adhéziós tenyészetként tartják fenn 10% FBS-szel és a megfelelő szelekciós antibiotikummal kiegészített DMEM-ben, a transzgén expresszió fenntartása érdekében 37 °C-on, pársított, 5%  $CO_2$ -tartalmú légkörben. A sejteket 80–90%-os konfluenciánál Accutase segítségével szubkultiváljuk (osztási arány 1:5–1:10). A tápközeget 2–3 naponta cseréljük.

## Organism

Emberi

## Tissue

Vese

## Disease

Transzformált/halhatatlanná tett magzati vese (HEK293 háttér; Rpn11-HTBH transzgén)

## Applications

A 26S proteaszóm biológiája; az Rpn11/PSMD14 működése; az ubiquitin-proteaszóm útvonal; a proteaszóm komplex tisztítása; a deubikvitinázok biológiája; HTBH-tag affinitásos tisztítás; a proteaszóm interaktomjának vizsgálata

## Jellemzők

## Morphology

Epithelszerű

## Cell type

Epithel sejtek

## Growth properties

Adherent

## Szabályozási adatok

**HEK293-Rpn11-HTBH sejtek | 305719****Citation** Stabil HEK293 sejtek – Rpn11-HTBH (Cytion katalógusszám: 305719)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**GMO Status** GMO-S1: Ez a HEK293-származék stabilan integrált Rpn11-HTBH expressziós kazettát tartalmaz (hexahisztidin-TEV-biotin-akceptor-peptid-hexahisztidin jelöléssel ellátott Rpn11/PSMD14). Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.**Biomolekuláris adatok****A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** A sejtek többsége PBS-ben leválik; szükség esetén adjunk hozzá Accutase-t, és hagyjuk 5 percig szobahőmérsékleten állni.**Doubling time** kb. 24–36 óra**Subculturing** Távolítsuk el a tápközeget, mossuk le kalcium- és magnéziummentes PBS-sel, öntsünk rá Accutase-t, inkubáljuk 8–10 percig szobahőmérsékleten, szuszpendáljuk újra a tápközegben, centrifugáljuk 300×g-vel 3 percig, öntsük ki a felülúszót, majd ültessük át friss tápközegbe.**Split ratio** 1–10**Seeding density**  $2-4 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 naponta**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.

## HEK293-Rpn11-HTBH sejtek | 305719

### Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

### Incubation Atmosphere

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül  $-150$  és  $-196\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ °C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA