Product sheet

Sel HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Informasi umum

Description	Sel HEK293 Stabil-Rpn11-HTBH merupakan turunan sel HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), yang direkayasa untuk mengekspresikan versi bertanda dari Rpn11 (juga dikenal sebagai PSMD14 atau POH1), subunit deubiquitinase dari kompleks tutup proteasom 26S. Rpn11 adalah deubiquitinase domain JAMM yang bergantung pada Zn^{2+} yang menghilangkan rantai ubiquitin dari substrat yang terikat proteasom selama degradasi proteasomal. Tag HTBH (hexahistidin-TEV-peptida penerima biotin-hexahistidin) memungkinkan pemurnian afinitas kompleks yang mengandung Rpn11 dalam kondisi alami, sehingga garis sel ini sangat cocok untuk pemurnian kompleks proteasom dan studi interaksi protein. Lini sel ini dapat digunakan dalam studi biologi proteasom 26S, regulasi jalur ubiquitin-proteasom (UPS), fungsi Rpn11/PSMD14 dalam pengendalian kualitas protein, perakitan dan dinamika proteasom, serta mekanisme kerja penghambat proteasom. Lini sel ini juga digunakan untuk pemurnian afinitas kompleks proteasom dalam bentuk aslinya serta sebagai model untuk mempelajari biologi deubiquitinase dalam konteks proteasom. Sistem penandaan HTBH memungkinkan pemurnian yang sangat ketat terhadap kompleks yang dibiotinilasi menggunakan metode pulldown berbasis streptavidin.
Organism	Manusia
Tissue	Ginjal
Disease	Ginjal janin yang telah dimodifikasi/diabadi (latar belakang sel HEK293; transgen Rpn11-HTBH)
Applications	Biologi proteasom 26S; fungsi Rpn11/PSMD14; jalur ubiquitin-proteasom; pemurnian kompleks proteasom; biologi deubiquitinase; pemurnian afinitas dengan tag HTBH; studi interaktom proteasom

Karakteristik

Morphology	Seperti epitel
Cell type	Sel epitel
Growth properties	Patuh

Data Peraturan

Citation	Sel HEK293 yang Stabil-Rpn11-HTBH (nomor katalog Cytion 305719)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Sel HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

GMO Status	GMO-S1: Turunan sel HEK293 ini mengandung kaset ekspresi Rpn11-HTBH yang terintegrasi secara stabil (Rpn11/PSMD14 yang ditandai dengan urutan hexahistidine-TEV-peptida penerima biotin-hexahistidine). Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di negara lain.

Data Biomolekuler

Penanganan

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
Dissociation Reagent	Sebagian besar sel akan terlepas dalam larutan PBS; jika perlu, tambahkan Accutase selama 5 menit pada suhu kamar
Doubling time	sekitar 24 hingga 36 jam
Subculturing	Buang medium, cuci dengan PBS tanpa kalsium dan magnesium, tutupi dengan Accutase, inkubasi selama 8–10 menit pada suhu kamar, resuspensi dalam medium, sentrifugasi pada 300×g selama 3 menit, buang supernatan, tanam kembali dalam medium segar.
Split ratio	1 sampai 10
Seeding density	2 hingga 4 × 10^4 sel/cm^2
Fluid renewal	Setiap 2 hingga 3 hari
Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap + 10% DMSO untuk kelangsungan hidup pasca-pencairan yang memadai.

Sel HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells	1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan. 2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan. 3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada. 4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka. 5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan. 6. Sentrifus campuran pada 200 x g selama 5 menit, dengan hati-hati buang supernatan yang mengandung media pembekuan. 7. Ikuti prosedur yang dijelaskan di bawah Pemulihan Pasca Pencairan
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfer yang dilembabkan.
Shipping Conditions	Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.
Storage Conditions	Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler