

**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. Sel ini juga digunakan untuk pemurnian afinitas kompleks proteasom dalam bentuk alami 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.

Sel HEK293 stabil-Rpn11-HTBH dipelihara sebagai kultur adheren dalam DMEM yang ditambah dengan 10% FBS dan antibiotik seleksi yang sesuai untuk mempertahankan ekspresi transgen pada suhu 37°C dalam atmosfer 5%  $CO_2$  yang dilembabkan. Sel disubkultur dengan Accutase pada tingkat konfluensi 80–90% (rasio pemisahan 1:5 hingga 1:10). Media diganti setiap 2–3 hari.

**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)

## Sel HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**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 NaHCO<sub>3</sub>, 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 diperlukan, 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 baru.**Split ratio** 1 sampai 10**Seeding density** 2 hingga  $4 \times 10^4$  sel/cm<sup>2</sup>**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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $200 \times g$  selama 5 menit, dengan hati-hati buang supernatan yang mengandung media pembekuan.
7. Ikuti prosedur yang dijelaskan di bawah Pemulihan Pasca Pencairan

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Penyimpanan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

**Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA**