

Cellule HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Informazioni generali

Description

Le cellule HEK293 stabili-Rpn11-HTBH sono un derivato trasfettato in modo stabile della linea cellulare HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), ingegnerizzata per esprimere una versione marcata di Rpn11 (nota anche come PSMD14 o POH1), la subunità deubiquitinasi del complesso "lid" del proteasoma 26S. Rpn11 è una deubiquitinasi con dominio JAMM Zn^{2+} -dipendente che rimuove le catene di ubiquitina dai substrati legati al proteasoma durante la degradazione proteasomica. Il tag HTBH (esaistidina-TEV-peptide accettore di biotina-esaistidina) consente la purificazione per affinità dei complessi contenenti Rpn11 in condizioni native, rendendo questa linea particolarmente adatta alla purificazione dei complessi proteasomali e agli studi sull'interactoma.

Questa linea cellulare è applicabile negli studi sulla biologia del proteasoma 26S, sulla regolazione della via ubiquitina-proteasoma (UPS), sulla funzione di Rpn11/PSMD14 nel controllo di qualità delle proteine, sull'assemblaggio e sulle dinamiche del proteasoma e sul meccanismo d'azione degli inibitori del proteasoma. Viene inoltre utilizzata per la purificazione per affinità di complessi proteasomici nativi e come modello per lo studio della biologia delle deubiquitinasi nel contesto del proteasoma. Il sistema di tagging HTBH consente una purificazione altamente rigorosa dei complessi biotinilati mediante pulldown basati sulla streptavidina.

Organism

Umano

Tissue

Rene

Disease

Rene fetale trasformato/immortalizzato (linea cellulare HEK293; transgene Rpn11-HTBH)

Applications

Biologia del proteasoma 26S; funzione di Rpn11/PSMD14; via ubiquitina-proteasoma; purificazione del complesso proteasomico; biologia delle deubiquitinasi; purificazione per affinità con tag HTBH; studi sull'interactoma del proteasoma

Caratteristiche

Morphology

Simile all'epitelio

Cell type

Cellule epiteliali

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Citation

Cellule HEK293 stabili - Rpn11-HTBH (codice catalogo Cytion 305719)

Biosafety level

1

Cellule HEK293-Rpn11-HTBH | 305719**NCBI_TaxID** 9606

GMO Status GMO-S1: Questo derivato della linea cellulare HEK293 contiene una cassetta di espressione Rpn11-HTBH integrata in modo stabile (Rpn11/PSMD14 marcato con esaistidina-TEV-peptide accettore di biotina-esaistidina). Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe variare in altri paesi.

Dati biomolecolari**Manipolazione**

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent La maggior parte delle cellule si stacca in PBS; se necessario, aggiungere Accutase per 5 minuti a temperatura ambiente

Doubling time circa da 24 a 36 ore

Subculturing Rimuovere il terreno di coltura, lavare con PBS privo di calcio e magnesio, coprire con Accutase, incubare per 8–10 min a temperatura ambiente, risospendere nel terreno di coltura, centrifugare a 300×g per 3 min, eliminare il surnatante, ripiantare in terreno di coltura fresco.

Split ratio Da 1 a 10

Seeding density da 2 a 4 × 10⁴ cellule/cm²

Fluid renewal Ogni 2 o 3 giorni

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelo.

Cellule HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelo

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare