

Células HEK293-Rpn11-HTBH | 305719**Informações gerais****Description**

As células HEK293 estáveis-Rpn11-HTBH são um derivado transfectado de forma estável da linha celular HEK293 (Rim Embrionário Humano 293), concebida para expressar uma versão marcada da Rpn11 (também conhecida como PSMD14 ou POH1), a subunidade de ubiquitinase do complexo da tampa do proteassoma 26S. A Rpn11 é uma desubiquitinase dependente de Zn^{2+} com domínio JAMM que remove cadeias de ubiquitina de substratos ligados ao proteassoma durante a degradação proteassômica. A etiqueta HTBH (hexahistidina-TEV-peptídeo aceitador de biotina-hexahistidina) permite a purificação por afinidade de complexos contendo Rpn11 em condições nativas, tornando esta linha particularmente adequada para a purificação de complexos do proteassoma e estudos do interatoma.

Esta linha celular é aplicável em estudos da biologia do proteassoma 26S, da regulação da via ubiquitina-proteassoma (UPS), da função da Rpn11/PSMD14 no controlo de qualidade das proteínas, da montagem e dinâmica do proteassoma e do mecanismo de ação dos inibidores do proteassoma. É também utilizada para a purificação por afinidade de complexos proteassômicos nativos e como modelo para o estudo da biologia das desubiquitinases no contexto do proteassoma. O sistema de marcação HTBH permite uma purificação altamente rigorosa de complexos biotinilados utilizando pulldowns baseados em estreptavidina.

Organism

Humano

Tissue

Rim

Disease

Rim fetal transformado/imortalizado (linha celular HEK293; transgene Rpn11-HTBH)

Applications

Biologia do proteassoma 26S; função da Rpn11/PSMD14; via da ubiquitina-proteassoma; purificação do complexo proteassoma; biologia das desubiquitinases; purificação por afinidade com a etiqueta HTBH; estudos do interactoma do proteassoma

Caraterísticas**Morphology**

De tipo epitelial

Cell type

Células epiteliais

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

Células HEK293 estáveis - Rpn11-HTBH (número de catálogo da Cytion 305719)

Biosafety level

1

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

GMO Status GMO-S1: Este derivado de HEK293 contém uma cassete de expressão de Rpn11-HTBH integrada de forma estável (Rpn11/PSMD14 marcado com hexahistidina-TEV-peptídeo aceitador de biotina-hexahistidina). Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent A maioria das células desprendem-se em PBS; se necessário, adicione Accutase durante 5 minutos à temperatura ambiente

Doubling time aprox. 24 a 36 horas

Subculturing Retirar o meio, lavar com PBS sem cálcio nem magnésio, cobrir com Accutase, incubar durante 8 a 10 minutos à temperatura ambiente, ressuspender no meio, centrifugar a 300×g durante 3 minutos, descartar o sobrenadante e repovoar em meio fresco.

Split ratio 1 a 10

Seeding density 2 a 4 × 10⁴ células/cm²

Fluid renewal A cada 2 ou 3 dias

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Células HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $200 \times g$ durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular