

Celule HEK293-Rpn11-HTBH | 305719**Informații generale****Description**

Celulele HEK293 stabile-Rpn11-HTBH reprezintă un derivat transfectat stabil al liniei celulare HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), modificată genetic pentru a exprima o versiune marcată a proteinei Rpn11 (cunoscută și sub denumirea de PSMD14 sau POH1), subunitatea deubiquitinază a complexului de acoperire al proteazomului 26S. Rpn11 este o deubiquitinază cu domeniu JAMM, dependentă de Zn^{2+} , care îndepărtează lanțurile de ubiquitină de pe substraturile legate de proteazom în timpul degradării proteazomale. Eticheta HTBH (hexahistidină-TEV-peptidă acceptor de biotină-hexahistidină) permite purificarea prin afinitate a complexelor care conțin Rpn11 în condiții native, ceea ce face ca această linie celulară să fie deosebit de potrivită pentru purificarea complexelor proteazomale și pentru studiile privind interactomul.

Această linie celulară este aplicabilă în studiile privind biologia proteazomului 26S, reglarea căii ubiquitină-proteazom (UPS), funcția Rpn11/PSMD14 în controlul calității proteinelor, asamblarea și dinamica proteazomului, precum și mecanismul de acțiune al inhibitorilor proteazomului. De asemenea, este utilizată pentru purificarea prin afinitate a complexelor proteazomale native și ca model pentru studierea biologiei deubiquitinazelor în contextul proteazomului. Sistemul de marcare HTBH permite purificarea extrem de riguroasă a complexelor biotinilate folosind metode de precipitare bazate pe streptavidină.

Organism

Om

Tissue

Rinichi

Disease

Rinichi fetal transformat/imortalizat (linia celulară HEK293; transgen Rpn11-HTBH)

Applications

Biologia proteazomului 26S; funcția Rpn11/PSMD14; calea ubiquitină-proteazom; purificarea complexului proteazomului; biologia deubiquitinazelor; purificarea prin afinitate cu ajutorul etichetei HTBH; studii privind interactomul proteazomului

Caracteristici**Morphology**

De tip epitelial

Cell type

Celule epiteliale

Growth properties

Aderent

Date de reglementare**Citation**

Celule HEK293 stabile – Rpn11-HTBH (număr de catalog Cytion 305719)

Biosafety level

1

Celule HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

NCBI_TaxID 9606

GMO Status GMO-S1: Acest derivat al liniei celulare HEK293 conține o casetă de expresie Rpn11-HTBH integrată stabil (Rpn11/PSMD14 marcat cu hexahistidină-TEV-peptidă acceptor de biotină-hexahistidină). Această clasificare se aplică numai pe teritoriul Germaniei și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS

Dissociation Reagent Majoritatea celulelor se desprind în PBS; dacă este necesar, adăugați Accutase timp de 5 minute la temperatura camerei

Doubling time aproximativ 24–36 de ore

Subculturing Se îndepărtează mediul, se spală cu PBS fără calciu și magneziu, se acoperă cu Accutase, se incubează 8–10 minute la temperatura camerei, se resuspende în mediu, se centrifughează la 300×g timp de 3 minute, se elimină supernatantul, se resemănează în mediu proaspăt.

Split ratio de la 1 la 10

Seeding density $2-4 \times 10^4$ celule/cm²

Fluid renewal La fiecare 2 sau 3 zile

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare.

Celule HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 200 x g timp de 5 minute, se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare.
7. Se urmează procedura descrisă la secțiunea Recuperare după decongelare

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară