

HEK293-Rpn11-HTBH-celler | 305719

Allmän information

Description

Stabila HEK293-celler – Rpn11-HTBH är en stabilt transfekterad variant av cellinjen HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), som har modifierats för att uttrycka en märkt version av Rpn11 (även känt som PSMD14 eller POH1), deubiquitinas-subenheten i 26S-proteasomets lockkomplex. Rpn11 är ett Zn^{2+} -beroende deubiquitinase med JAMM-domän som avlägsnar ubiquitin-kedjor från proteasombundna substrat under proteasomal nedbrytning. HTBH-taggen (hexahistidin-TEV-biotinacceptorpeptid-hexahistidin) möjliggör affinitetsrening av Rpn11-innehållande komplex under naturliga förhållanden, vilket gör denna cellinje särskilt lämplig för rening av proteasomkomplex och interaktionsstudier.

Denna cellinje är användbar i studier av 26S-proteasombiologi, reglering av ubiquitin-proteasomvägen (UPS), Rpn11/PSMD14-funktionen vid proteinkvalitetskontroll, proteasomets sammansättning och dynamik samt verkningsmekanismen hos proteasomhämmare. Den används även för affinitetsrening av nativa proteasomkomplex och som modell för att studera deubiquitinase-biologi i samband med proteasomet. HTBH-märkningssystemet möjliggör mycket noggrann rening av biotinylerade komplex med hjälp av streptavidinbaserade pulldowns.

Organism

Människan

Tissue

Njurar

Disease

Transformerad/odödliggjord fosternjure (HEK293-bakgrund; Rpn11-HTBH-transgen)

Applications

26S-proteasombiologi; Rpn11/PSMD14-funktion; ubiquitin-proteasomvägen; rening av proteasomkomplex; deubiquitinase-biologi; affinitetsrening med HTBH-tag; studier av proteasominteraktion

Egenskaper

Morphology

Epitelliknande

Cell type

Epiteliala celler

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation

Stabila HEK293-celler – Rpn11-HTBH (Cytion-katalognummer 305719)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HEK293-Rpn11-HTBH-celler | 305719

GMO Status	GMO-S1: Detta HEK293-derivat innehåller en stabilt integrerad Rpn11-HTBH-expressionskassett (Rpn11/PSMD14 märkt med hexahistidin-TEV-biotinacceptorpeptid-hexahistidin). Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.
-------------------	---

Biomolekylära data**Hantering**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	De flesta celler lossnar i PBS; tillsätt vid behov Accutase i 5 minuter vid rumstemperatur
Doubling time	ca 24 till 36 timmar
Subculturing	Avlägsna odlingsmediet, tvätta med PBS utan kalcium och magnesium, täck med Accutase, inkubera i 8–10 minuter vid rumstemperatur, resuspendera i odlingsmediet, centrifugera vid 300×g i 3 minuter, kasta supernatanten och återutsäda i nytt odlingsmedium.
Split ratio	1 till 10
Seeding density	2 till 4×10^4 cell ^{er} /cm ²
Fluid renewal	Var 2:a till 3:e dag
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.

HEK293-Rpn11-HTBH-celler | 305719

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödesbänk och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 200 x g i 5 minuter och kassera försiktigt supernatanten som innehåller frysmedium.
7. Följ den procedur som beskrivs under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys