Product sheet

Células HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Información general

Description	Las células HEK293 estables-Rpn11-HTBH son un derivado transfectado de manera estable de la línea celular HEK293 (riñón embrionario humano 293), diseñada para expresar una versión marcada de Rpn11 (también conocida como PSMD14 o POH1), la subunidad deubiquitinasa del complejo de la tapa del proteasoma 26S. Rpn11 es una desubiquitinasa dependiente de Zn^{2+} con dominio JAMM que elimina las cadenas de ubiquitina de los sustratos unidos al proteasoma durante la degradación proteasómica. La etiqueta HTBH (hexahistidina-TEV-péptido aceptor de biotina-hexahistidina) permite la purificación por afinidad de complejos que contienen Rpn11 en condiciones nativas, lo que hace que esta línea sea particularmente adecuada para la purificación de complejos del proteasoma y estudios de interactoma. Esta línea celular es aplicable en estudios de la biología del proteasoma 26S, la regulación de la vía ubiquitina-proteasoma (UPS), la función de Rpn11/PSMD14 en el control de calidad de las proteínas, el ensamblaje y la dinámica del proteasoma, y el mecanismo de acción de los inhibidores del proteasoma. También se utiliza para la purificación por afinidad de complejos proteasómicos nativos y como modelo para estudiar la biología de las desubiquitinases en el contexto del proteasoma. El sistema de etiquetado HTBH permite una purificación altamente rigurosa de complejos biotinilados mediante pulldowns basados en estreptavidina.
Organism	Humano
Tissue	Riñón
Disease	Riñón fetal transformado/inmortalizado (linaje HEK293; transgén Rpn11-HTBH)
Applications	Biología del proteasoma 26S; función de Rpn11/PSMD14; vía de la ubiquitina-proteasoma; purificación del complejo proteasoma; biología de las desubiquitinases; purificación por afinidad con la etiqueta HTBH; estudios del interactoma del proteasoma

Características

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliales
Growth properties	Adherente

Datos normativos

Citation	Células HEK293 estables - Rpn11-HTBH (número de catálogo de Cytion 305719)
Biosafety level	1

Células HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S1: Este derivado de HEK293 contiene un casete de expresión de Rpn11-HTBH integrado de manera estable (Rpn11/PSMD14 marcado con hexahistidina-TEV-péptido aceptor de biotina-hexahistidina). Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros países.

Datos biomoleculares

Manejo

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
Dissociation Reagent	La mayoría de las células se desprenden en PBS; si es necesario, agrega Accutase durante 5 minutos a temperatura ambiente
Doubling time	aprox. de 24 a 36 horas
Subculturing	Retirar el medio, lavar con PBS sin calcio ni magnesio, cubrir con Accutase, incubar de 8 a 10 minutos a temperatura ambiente, resuspender en medio, centrifugar a 300×g durante 3 minutos, desechar el sobrenadante y volver a sembrar en medio fresco.
Split ratio	Del 1 al 10
Seeding density	De 2 a 4 × 10^4 $células/cm^2$
Fluid renewal	Cada 2 o 3 días
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo con un 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación.

Células HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells	1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte. 2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato. 3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo. 4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo. 5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente. 6. Centrifugue la mezcla a 200 x g durante 5 minutos; deseche con cuidado el sobrenadante que contiene el medio de congelación. 7. Siga el procedimiento descrito en la sección «Recuperación posterior a la descongelación»
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.
Shipping Conditions	Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.
Storage Conditions	Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular