Product sheet

Cellules HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Renseignements généraux

Description	Les cellules HEK293 stables-Rpn11-HTBH constituent un dérivé transfecté de manière stable de la lignée cellulaire HEK293 (Human Embryonic Kidney 293), conçue pour exprimer une version marquée de Rpn11 (également connue sous le nom de PSMD14 ou POH1), la sous-unité déubiquitinase du complexe de couvercle du protéasome 26S. Rpn11 est une déubiquitinase à domaine JAMM dépendante du Zn^{2+} qui élimine les chaînes d'ubiquitine des substrats liés au protéasome au cours de la dégradation protéasomale. Le marqueur HTBH (hexahistidine-TEV-peptide accepteur de biotine-hexahistidine) permet la purification par affinité des complexes contenant Rpn11 dans des conditions natives, ce qui rend cette lignée particulièrement adaptée à la purification des complexes protéasomaux et aux études d'interactome. Cette lignée cellulaire peut être utilisée dans des études portant sur la biologie du protéasome 26S, la régulation de la voie ubiquitine-protéasome (UPS), la fonction de Rpn11/PSMD14 dans le contrôle de la qualité des protéines, l'assemblage et la dynamique du protéasome, ainsi que le mécanisme d'action des inhibiteurs du protéasome. Elle est également utilisée pour la purification par affinité de complexes protéasomiques natifs et comme modèle pour l'étude de la biologie des déubiquitinases dans le contexte du protéasome. Le système de marquage HTBH permet une purification très rigoureuse des complexes biotinylés à l'aide de pulldowns à base de streptavidine.
Organism	Humain
Tissue	Rein
Disease	Rein fœtal transformé/immortalisé (lignée HEK293; transgène Rpn11-HTBH)
Applications	Biologie du protéasome 26S; fonction de Rpn11/PSMD14; voie ubiquitine-protéasome; purification du complexe protéasomique; biologie des déubiquitinases; purification par affinité à l'aide du marqueur HTBH; études sur l'interactome du protéasome

Caractéristiques

Morphology	De type épithélial
Cell type	Cellules épithéliales
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	Cellules HEK293 stables - Rpn11-HTBH (numéro de catalogue Cytion 305719)
Biosafety level	1

Cellules HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S1 : Ce dérivé de la lignée HEK293 contient une cassette d'expression Rpn11-HTBH intégrée de manière stable (Rpn11/PSMD14 marqué par une séquence hexahistidine-TEV-peptide accepteur de biotine-hexahistidine). Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	La plupart des cellules se détachent dans le PBS; au besoin, ajouter de l'Accutase pendant 5 minutes à température ambiante.
Doubling time	environ 24 à 36 heures
Subculturing	Retirer le milieu, laver avec du PBS sans calcium ni magnésium, recouvrir d'Accutase, incuber pendant 8 à 10 minutes à température ambiante, remettre en suspension dans le milieu, centrifuger à 300 × g pendant 3 minutes, jeter le surnageant, réensemencer dans du milieu frais.
Split ratio	1 à 10
Seeding density	de 2 à 4 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	Tous les 2 ou 3 jours
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet additionné de 10 % de DMSO afin d'assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Cellules HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite dans la section « Récupération après décongélation ».

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire