Product sheet

Células HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Informações gerais

Description	As células HEK293 estáveis-Rpn11-HTBH são um derivado transfectado de forma estável da linhagem celular HEK293 (Rim Embrionário Humano 293), projetadas para expressar uma versão marcada da Rpn11 (também conhecida como PSMD14 ou POH1), a subunidade deubiquitinase 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 marcação HTBH (hexahistidina-TEV-peptídeo aceitador de biotina-hexahistidina) permite a purificação por afinidade de complexos contendo Rpn11 em condições nativas, tornando essa linha particularmente adequada para a purificação de complexos do proteassoma e estudos de interatoma. Essa linhagem celular é aplicável em estudos da biologia do proteassoma 26S, da regulação da via ubiquitina-proteassoma (UPS), da função de Rpn11/PSMD14 no controle de qualidade das proteínas, da montagem e dinâmica do proteassoma e do mecanismo de ação dos inibidores do proteassoma. Ela também é 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 a purificação altamente rigorosa de complexos biotinilados por meio de 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 do Rpn11/PSMD14; via ubiquitina-proteassoma; purificação de complexos proteassômicos; biologia das desubiquitinases; purificação por afinidade com a etiqueta HTBH; estudos do interatoma do proteassoma

Características

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliais
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

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). Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode ser diferente em outros países.

Dados biomoleculares

Manuseio

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	A maioria das células se desprende no PBS; se necessário, adicione Accutase por 5 minutos à temperatura ambiente
Doubling time	aproximadamente 24 a 36 horas
Subculturing	Remova o meio, lave com PBS sem cálcio e magnésio, cubra com Accutase, incube por 8 a 10 minutos à temperatura ambiente, ressuspenda no meio, centrifugue a 300×g por 3 minutos, descarte o sobrenadante e replante em meio fresco.
Split ratio	1 a 10
Seeding density	2 a 4 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	A cada 2 ou 3 dias
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo + 10% de DMSO para garantir uma viabilidade adequada após o descongelamento.

Células HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente. 6. Centrifugue a mistura a 200 x g por 5 minutos e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento. 7. Siga o procedimento descrito na seção “Recuperação pós-descongelamento”
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular