

Tế bào HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thông tin chung

Description

Tế bào HEK293 ổn định - Rpn11-HTBH là một dòng tế bào biến đổi gen ổn định được tạo ra từ dòng tế bào HEK293 (Tế bào thận phôi người 293), được thiết kế để biểu hiện phiên bản có gắn thẻ của Rpn11 (còn được gọi là PSMD14 hoặc POH1), tiểu đơn vị deubiquitinase của phức hợp nắp proteasome 26S. Rpn11 là một enzym khử ubiquitin có miền JAMM phụ thuộc vào Zn^{2+} , có chức năng loại bỏ các chuỗi ubiquitin khỏi các chất nền liên kết với proteasome trong quá trình phân hủy bằng proteasome. Thẻ HTBH (hexahistidine-TEV-peptide chấp nhận biotin-hexahistidine) cho phép tinh chế bằng ái lực các phức hợp chứa Rpn11 trong điều kiện tự nhiên, khiến dòng tế bào này đặc biệt phù hợp cho việc tinh chế phức hợp proteasome và nghiên cứu tương tác protein.

Dòng tế bào này có thể được áp dụng trong các nghiên cứu về sinh học proteasome 26S, điều hòa con đường ubiquitin-proteasome (UPS), chức năng của Rpn11/PSMD14 trong kiểm soát chất lượng protein, quá trình lắp ráp và động học của proteasome, cũng như cơ chế tác động của các chất ức chế proteasome. Nó cũng được sử dụng để tinh chế bằng phương pháp liên kết các phức hợp proteasome ở trạng thái tự nhiên và làm mô hình nghiên cứu sinh học deubiquitinase trong bối cảnh proteasome. Hệ thống gắn thẻ HTBH cho phép tinh chế các phức hợp được biotin hóa với độ chính xác cao bằng phương pháp kéo xuống dựa trên streptavidin.

Các tế bào HEK293 ổn định mang gen Rpn11-HTBH được nuôi cấy bám dính trong môi trường DMEM bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và kháng sinh chọn lọc phù hợp để duy trì biểu hiện gen chuyển tại 37°C trong môi trường có độ ẩm và nồng độ CO_2 5%. Các tế bào được nuôi cấy lại bằng Accutase khi đạt độ phủ 80–90% (tỷ lệ phân chia 1:5 đến 1:10). Thay môi trường nuôi cấy mỗi 2–3 ngày.

Organism

Con người

Tissue

Thận

Disease

Thận thai nhi đã được biến đổi/bất tử hóa (nền gen HEK293; gen chuyển Rpn11-HTBH)

Applications

Sinh học của proteasome 26S; Chức năng của Rpn11/PSMD14; Con đường ubiquitin-proteasome; Tách chiết phức hợp proteasome; Sinh học của enzym deubiquitinase; Tách chiết bằng ái lực với thẻ HTBH; Nghiên cứu mạng lưới tương tác của proteasome

Đặc điểm

Morphology

Tương tự biểu mô

Cell type

Tế bào biểu mô

Growth properties

Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Tế bào HEK293-Rpn11-HTBH | 305719**Citation** Tế bào HEK293 ổn định - Rpn11-HTBH (mã sản phẩm Cytion 305719)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào biến đổi gen này, được phát triển từ dòng HEK293, chứa một cassette biểu hiện Rpn11-HTBH được tích hợp ổn định (Rpn11/PSMD14 được gắn thẻ hexahistidine-TEV-peptide chấp nhận biotin-hexahistidine). Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác biệt ở các quốc gia khác.**Dữ liệu sinh học phân tử****Xử lý****Culture Medium** DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)**Supplements** Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy**Dissociation Reagent** Hầu hết các tế bào sẽ bong ra trong dung dịch PBS; nếu cần, hãy thêm Accutase và để ở nhiệt độ phòng trong 5 phút**Doubling time** khoảng 24 đến 36 giờ**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy, rửa bằng PBS không chứa canxi và magiê, phủ Accutase lên, ủ trong 8–10 phút ở nhiệt độ phòng, hòa tan lại trong môi trường nuôi cấy, ly tâm ở 300×g trong 3 phút, loại bỏ phần dịch nổi, cấy lại vào môi trường nuôi cấy mới.**Split ratio** Từ 1 đến 10**Seeding density** 2 đến 4×10^4 tế bào/cm²**Fluid renewal** Mỗi 2 đến 3 ngày**Freeze medium** Với tư cách là môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sót sau khi rã đông.

Tế bào HEK293-Rpn11-HTBH | 305719

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 200 x g trong 5 phút, cẩn thận loại bỏ dịch trên chứa môi trường đông lạnh.
7. Thực hiện theo quy trình mô tả trong phần Phục hồi sau khi rã đông

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA