Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

INFORMACIÓN GENERAL

Descripción

Las células HEK293 estables-Rpn11-HTBH son un derivado transfectado de forma estable de la línea celular HEK293 (riñón embrionario humano 293), diseñadas 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 especialmente adecuada para la purificación de complejos del proteasoma y para estudios del interactoma.
Esta línea celular es aplicable en estudios sobre 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 muy rigurosa de complejos biotinilados mediante pulldowns basados en estreptavidina.

Pañuelo de papel	Riñón
Enfermedad	Riñón fetal transformado/inmortalizado (linaje HEK293; transgén Rpn11-HTBH)

Aplicaciones

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

CLASIFICACIÓN

Organismo	Humano
Propiedades de crecimiento	Adherente
Situación respecto a los OMG	GMO-S1

Detalles sobre la presencia de OMG

GMO-S1: This HEK293 derivative contains a stably integrated Rpn11-HTBH expression cassette (hexahistidine-TEV-biotin acceptor peptide-hexahistidine tagged Rpn11/PSMD14). This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Nivel de bioseguridad	1

CARACTERÍSTICAS

Morfología	De tipo epitelial
Tipo de célula	Células epiteliales
Tiempo de duplicación	entre 24 y 36 horas, aproximadamente

IDENTIFICADORES

Referencia

Células HEK293 estables - Rpn11-HTBH (número de catálogo de Cytion 305719)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

N.º de identificación fiscal del NCBI	9606

MANEJO Y CULTIVO

Medio de cultivo

DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO3, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)

Atmósfera de incubación	37°C, 5%CO2, atmósfera humidificada.

Suplementos

Complementar el medio con un 10% de FBS

Reactivo de disociación	La mayoría de las células se desprenden en PBS; si es necesario, añadir Accutase durante 5 minutos a temperatura ambiente.

Subcultivo

Retirar el medio, lavar con PBS sin calcio ni magnesio, cubrir con Accutase, incubar entre 8 y 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.

Relación de división	Del 1 al 10
Densidad de siembra	De 2 a 4 × 10^4 células/cm^2
Renovación de fluidos	Cada 2 ó 3 días

Descongelación y cultivo

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 200 x g for 5 minutes, carefully discard the supernatant containing freezing medium.
Follow the procedure described under Post-Thaw Recovery

CONTROL DE CALIDAD Y CRIOPRESERVACIÓN

Medio de congelación	Como medio de criopreservación, utilizamos medio de crecimiento completo + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación.

Condiciones de almacenamiento

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Condiciones de envío

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

ASPECTOS LEGALES Y DE SEGURIDAD

Medidas de seguridad

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su futura descongelación, es obligatorio cumplir estrictas medidas de seguridad. Es esencial utilizar guantes y ropa de protección adecuados, así como una mascarilla o gafas de seguridad durante el traslado de muestras congeladas desde o hacia el tanque de nitrógeno líquido. Con ello se pretende mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones crioviales al extraerlas, que pueden dar lugar a la proyección de fragmentos afilados.

Garantía

En Cytion, respaldamos la calidad y viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante los 60 días posteriores al envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales se ajustan a las especificaciones descritas en el Certificado de Análisis y/o Hoja de Producto
Para más información, consulte nuestra <a href=""/Quiénes somos/Garantía/"" hreflang=""x-default"">Declaración de garantía

Se requiere un acuerdo de transferencia de material	Yes