Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

GENERAL INFORMATION

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.

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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliales
Doubling time	aprox. de 24 a 36 horas

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

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

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

Thawing and culturing

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

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su descongelación futura, es obligatorio cumplir con estrictas medidas de seguridad. Es esencial contar con guantes y ropa de protección adecuados, y se requiere el uso de una mascarilla o lentes de seguridad durante la transferencia de muestras congeladas hacia o desde el tanque de nitrógeno líquido. Esto tiene como objetivo mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones de los criotubos al retirarlos, lo que puede provocar la proyección de fragmentos afilados.

Warranty

En Cytion, respaldamos la calidad y la viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante
60 días a partir de la fecha de envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales cumplen con las especificaciones descritas en el
Certificado de Análisis y/o la Ficha del Producto.
Para obtener más detalles, consulte nuestra
Declaración de garantía.

Material Transfer Agreement required	Yes

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