Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

GENERAL INFORMATION

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.

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

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 type épithélial
Cell type	Cellules épithéliales
Doubling time	environ 24 à 36 heures

IDENTIFIERS

Citation

Cellules HEK293 stables - Rpn11-HTBH (numéro de catalogue 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 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)

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

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.

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

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	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet additionné de 10 % de DMSO afin d'assurer une viabilité adéquate après décongélation.

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.

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.

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu'on prévoit entreposer un cryotube dans de l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d'échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d'éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

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