Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

As células HEK293 estáveis-Rpn11-HTBH são um derivado transfectado de forma estável da linha celular HEK293 (Rim Embrionário Humano 293), concebida 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 proteassómica. A etiqueta HTBH (hexahistidina-TEV-peptídeo aceitador de biotina-hexahistidina) permite a purificação por afinidade de complexos contendo Rpn11 em condições nativas, tornando esta linha particularmente adequada para a purificação de complexos do proteassoma e estudos do interatoma.
Esta linha celular é aplicável em estudos da biologia do proteassoma 26S, da regulação da via ubiquitina-proteassoma (UPS), da função da Rpn11/PSMD14 no controlo de qualidade das proteínas, da montagem e dinâmica do proteassoma e do mecanismo de ação dos inibidores do proteassoma. É também utilizada para a purificação por afinidade de complexos proteassómicos nativos e como modelo para o estudo da biologia das desubiquitinases no contexto do proteassoma. O sistema de marcação HTBH permite uma purificação altamente rigorosa de complexos biotinilados utilizando pulldowns baseados em estreptavidina.

Tecido	Rim
Doença	Rim fetal transformado/imortalizado (linha celular HEK293; transgene Rpn11-HTBH)

Aplicações

Biologia do proteassoma 26S; função da Rpn11/PSMD14; via da ubiquitina-proteassoma; purificação do complexo proteassoma; biologia das desubiquitinases; purificação por afinidade com a etiqueta HTBH; estudos do interactoma do proteassoma

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos OGM

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.

Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	De tipo epitelial
Tipo de célula	Células epiteliais
Tempo de duplicação	aprox. 24 a 36 horas

IDENTIFICADORES

Referência

Células HEK293 estáveis - Rpn11-HTBH (número de catálogo da 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

Número de identificação fiscal do NCBI	9606

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO3, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	A maioria das células desprendem-se em PBS; se necessário, adicione Accutase durante 5 minutos à temperatura ambiente

Subcultura

Retirar o meio, lavar com PBS sem cálcio nem magnésio, cobrir com Accutase, incubar durante 8 a 10 minutos à temperatura ambiente, ressuspender no meio, centrifugar a 300×g durante 3 minutos, descartar o sobrenadante e repovoar em meio fresco.

Rácio de divisão	1 a 10
Densidade de sementeira	2 a 4 × 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	A cada 2 ou 3 dias

Descongelamento e cultura

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

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	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