Stable HEK293 Cells-Rpn11-HTBH

305719

GENERAL INFORMATION

Description

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

Tissue	Rim
Disease	Rim fetal transformado/imortalizado (linha celular HEK293; transgene Rpn11-HTBH)

Applications

Biologia do proteassoma 26S; função do Rpn11/PSMD14; via ubiquitina-proteassoma; purificação de complexos proteassômicos; biologia das desubiquitinases; purificação por afinidade com a etiqueta HTBH; estudos do interatoma do proteassoma

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 epiteliais
Doubling time	aproximadamente 24 a 36 horas

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606

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

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	A maioria das células se desprende no PBS; se necessário, adicione Accutase por 5 minutos à temperatura ambiente

Subculturing

Remova o meio, lave com PBS sem cálcio e magnésio, cubra com Accutase, incube por 8 a 10 minutos à temperatura ambiente, ressuspenda no meio, centrifugue a 300×g por 3 minutos, descarte o sobrenadante e replante em meio fresco.

Split ratio	1 a 10
Seeding density	2 a 4 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	A cada 2 ou 3 dias

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 meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo + 10% de DMSO para garantir uma viabilidade adequada após o descongelamento.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes