Product sheet

Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

Обща информация

Description	**Забележка: Посочените цени за клетъчните линии важат изключително за академични/нестопански клиенти. За търговски субекти цената е приблизително 6 250 евро. Ако представлявате търговски субект или не сте сигурни в коя категория попадате, моля свържете се с нас.** Клетъчната линия HEK293-CTLA4 е стабилна рекомбинантна клетъчна линия HEK293, създадена да експресира рецептора CTLA4 на средно-ниско ниво, приблизително 4000 молекули на клетка. Тази клетъчна линия е разработена с помощта на технологията „landing pad“ на inscreenex, която осигурява прецизна и възпроизводима интеграция на гена CTLA4 в специфичен, предварително валидиран геномни локус. CTLA4, известен също като CD152, е имунен контролен белтък, който играе ключова роля в регулирането на активацията на Т-клетките. Чрез конкуренция със стимулиращия рецептор CD28 за свързване с B7 молекули (CD80 и CD86) върху антиген-представящите клетки, CTLA4 потиска имунните реакции, поддържайки по този начин самотолерантността и предотвратявайки автоимунитета. CTLA4 е ключова мишена в имунотерапията на рака, особено за лекарства като ипилимумаб, които имат за цел да засилят антитуморния имунитет чрез блокиране на този контролен пункт и активиране на Т-клетките. Експресията на CTLA4 в тази клетъчна линия беше потвърдена чрез проточна цитометрия с антитяло, специфично за мишената, което гарантира надеждна и последователна плътност на рецепторите в цялата клетъчна популация.
Organism	Човек
Tissue	Фетален бъбрек
Disease	Трансформиран/увековечен; нетуморогенен (на базата на HEK293)
Applications	Изследвания в областта на инхибиторите на контролните точки; разработване на антитела, насочени към CTLA4 (ипилимумаб, аналози на тремелимумаб); тестове за костимулация на Т-клетки; скрининг в областта на имуноонкологията; инженеринг на биспецифични антитела

Характеристики

Age	Плод
Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки

Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HEK293-CTLA4 (каталожен номер 305423 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Този вариант на HEK293 съдържа конструкт за експресия на CTLA-4 за изследване на имунните контролни точки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 1 mM натриев пируват, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Добавете Geneticin (G418-Sulfat), за да достигнете крайна концентрация от 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Трипсин-EDTA
Doubling time	около 24–36 часа

Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

Subculturing	За рутинни адхезивни клетъчни култури: Аспирирайте старата хранителна среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, за да отстраните останалата среда. След като аспирирате PBS, добавете подходящия обем разтвор на трипсин/EDTA в зависимост от размера на съда за култивиране (напр. 1 ml за колба T25, 3 ml за колба T75) и инкубирайте при стайна температура или 37 °C, докато клетките се отделят (5-10 минути). Наблюдавайте отделянето под микроскоп и при необходимост леко потупайте съда, за да освободите клетките. След като се отделят, добавете пълна среда, за да инактивирате трипсина/EDTA, внимателно ресуспендирайте клетките и прехвърлете аликвотна част от клетъчната суспензия в нов съд за култивиране, съдържащ прясна среда. Поставете съда в инкубатор, настроен на 37 °C с 5 % $_{CO2}$, и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	2 до 4 x $10^{4\ клетки}/cm^2$
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяването разделете клетките в съотношение 1:2 до 1:3 в колби T25 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да залепнат (за залепнали култури) за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.