

## Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

## Обща информация

## Description

**Отказ от отговорност: Цените, показани за клетъчни линии, са предназначени изключително за клиенти с нестопанска цел. Ако представлявате търговска организация, моля, свържете се с нас за алтернативни цени.**

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, като е използвана технологията на inscreenex "landing pad", която осигурява прецизно и възпроизводимо интегриране на гена CTLA4 в специфичен, предварително валидиран геномен локус. CTLA4, известен също като CD152, е имуен контролен протеин, който играе решаваща роля в регулирането на активирането на Т-клетките. Като се конкурира със стимулиращия рецептор CD28 за свързване с молекулите B7 (CD80 и CD86) на антиген-представящите клетки, CTLA4 понижава имунните отговори, като по този начин поддържа самотолерантност и предотвратява автоимунитета. CTLA4 е ключова мишена в имунотерапията на рака, особено за лекарства като ипилимумаб, които имат за цел да засилят противотуморния имунитет, като блокират тази контролна точка и активират Т-клетките.

Експресията на CTLA4 в тази клетъчна линия е потвърдена с помощта на поточна цитометрия с таргетно-специфично антитяло, което гарантира надеждна и последователна рецепторна плътност в клетъчната популация.

**Organism** Човек

**Tissue** Фетален бъбрек

## Характеристики

**Age** Плод

**Gender** Жена

**Morphology** Подобни на епител

**Growth properties** Монослой, прилепнал

## Регулаторни данни

**Citation** HEK293-CTLA4 (каталожен номер 305423 на Cytion)

**Biosafety level** 1

## Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

**NCBI\_TaxID** 9606**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 NaHCO<sub>3</sub> (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**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 % CO<sub>2</sub>, и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.**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 се слепнат за поне 24 часа.

За най-добро прикрепване и жизнеспособност след размразяване на клетките препоръчваме да се използват колби или плаки с колагеново покритие за първоначалното посяване след криовъзстановяването. Колагеновото покритие не е необходимо за последващо рутинно култивиране на клетките.

## Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

### 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.

### 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 или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300 \times g$  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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

### Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

## Клетки HEK293-CTLA4 | 305423

### Freezing Procedure

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

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.